LO SPERIMENTALE

—

ARCHIVIO DI BIOLOGIA

LO SPERIMENTALE

ARCHIVIO DI BIOLOGIA

COMITATO DI DIREZIONE:

BANTI Prof. Guido
BUFALINI Prof. Giovanni — CHIARUGI Prof. Giulio
FANO Prof. Giulio — LUSTIG Prof. Alessandro
ROSTER Prof. Giorgio

Anno L

FIRENZE
STABILIMENTO TIPOGRAFICO FIORENTINO
Via San Gallo, 33

1896

(Clinica Medica generale della R. Università di Parma.)

A PROPOSITO DELLA PATOGENESI DELL'UROBILINURIA

NOTA CRITICA

DEL

PROF. A. RIVA
Direttore.

I.

Il dottor Giarrè della Clinica Propedeutica di Firenze, prende occasione da certe sue ricerche sulla *Urobilinuria nell'età infantile*, per spezzare una lancia in favore della *teoria* così detta *pimentaria dell'urobilinuria*, che quantunque di origine straniera chiama *teoria italiana*.

Debbo dire al dottor Giarrè che ho letto con attenzione il suo accurato ed interessante lavoro, ma che non sono riuscito a trovare che ben pochi argomenti di fatto valevoli a sostenere le sue conclusioni, un buon numero invece che combattono risolutamente la teoria che predilige.

Per chi non lo conoscesse, dirò che il lavoro del Giarrè (1) è diviso in tre parti. Nella 1ª studia l'influenza che sulla urobilinuria dei bambini hanno le malattie infettive; nella 2ª l'influenza di diverse malattie epatiche; nella 3ª l'urobilinuria nei neonati e nei lattanti.

Le osservazioni della prima serie sono interessanti per sè in quantochè illustrano un nuovo punto della patologia infantile, ma non credo abbiano peso nella questione della pato-

(1) Dott. Carlo Giarrè, *L'urobilinuria nell'età infantile*. (Lo Sperimentale, anno XLIX, Sezione biologica, fasc. 1 e 2.)

genesi della urobilinuria, od almeno ne abbiano di più di osservazioni consimili fatte sugli adulti. Si tratta di bambini di due o più anni, fino a 13, afflitti da diverse forme di malattia infettiva (morbillo, scarlattina, difterite, ecc.), in cui l' A. a diverse epoche della malattia trova, or più or meno, urobilina nelle urine, senza però tener mai calcolo di quella delle feci. So bene che quando aprioristicamente si crede alla indipendenza dei due fatti, si può ritenerne giustificata la trascuranza; ma quando per una lunga serie di osservazioni, come io ho fatte, questa relazione si crede bene assicurata, tale trascuranza appare una lacuna che toglie a quei casi, anche quando ne avessero, il che non è, ogni valore — e dico che non è perchè è noto già, che nelle malattie febbrili, date pressochè sempre da processi infettivi, l' urobilina più o meno cresce senza che per questo se ne possa cavare che l' origine della urobilina sia piuttosto intraorganica che intestinale.

Le considerazioni che l' A. fa seguire ad ogni serie delle sue osservazioni sono delle ipotesi che si possono considerare ingegnose, ma niente altro che ipotesi che potrebbero essere sostituite da altre aventi uguale ed anche maggior fondamento; e così, ad esempio, la corrispondenza della maggiore o minore quantità di urobilina in relazione alla *maggiore o minore resistenza che all'azione emolitica dell'agente infettivo, oppongono i vari individui*, e l'altra dell'emolisi e stasi epatica che si verifica nelle forme sunnominate, può essere facilmente accettata; ma penso che il fenomeno complessivo sia assai meno semplice di quanto forse l' A. giudica, e che all'aumentata emolisi corrisponda una modificazione quantitativa e qualitativa della funzione epatica, che è il punto di partenza di un aumento nella quantità urobilinica sì delle feci che dell' urina.

A proposito del rapporto fra la bilina dell' intestino e quella che viene eliminata per la via del rene, l' A. a pag. 41 del suo lavoro, dopo accennato al fatto primieramente trovato dal Quincke, confermato poi dal Gherard, da me e dallo stesso Giarrè, la mancanza, cioè, dell' urobilina nell' urina dei lattanti, asserisce che questa però comparisce allorchè i bambini sono colpiti da broncopneumonite, *mentre l' esame delle feci non mostra*

proporzionale aumento della stercobilina, ho accuratamente scorso il lavoro e debbo osservare che ho cercato ancora invano i *dati di fatto* su cui questa sua dichiarazione si appoggia.

Trovo nella prima parte della sua pubblicazione una lunga serie di casi di pneumoniti, broncopneumoniti e pleuriti risguardanti generalmente bambini di due e più anni, posti quindi a dieta ordinaria, od almeno alimentati con latte di vacca, in cui si riscontra, come negli adulti, urobilina in copia più o meno grande, ma non una in cui contemporaneamente sia stata fatta la ricerca della bilina nelle feci, sicchè nella quistione che ci occupa non possono aver peso: altrettanto deve dirsi dei casi di broncopneumonite e di altre malattie infettive, quali il morbillo, la scarlattina, ecc. Solo nella terza parte del lavoro, l'*urobilinuria nei lattanti e nei neonati*, dopo aver riferite le sue ricerche sulla itterizia dei neonati, sulle quali avrò bisogno di tornare più tardi, e dichiarato che in 6 neonati normali non ha trovato, o solo traccie, di bilina nella feci, e corrispondentemente quindi niente bilina nella urina, aggiunge che *questo nulla prova nè prò nè contro la teoria intestinale, ma le cose vanno diversamente quando si mettono a confronto fra loro le analisi delle urine e delle feci di lattanti normali con quelli colpiti da malattie infettive, ed in special modo dalla infezione pneumonica*, e passa quindi a riferire le relative osservazioni, che sono 10.

I primi cinque, messi unicamente per confronto, riguardano bambini affetti da malattie diverse notoriamente senza influenza sulla eliminazione della urobilina, in tre dei quali si è trovata notevole stria della stercobilina senza urobilina, ciò che li avvicina ai casi normali degli adulti ove la maggior parte dell'urobilina, per me, assorbita dall'intestino, viene distrutta lungo la via d'assorbimento per dare probabilmente luogo ad altri prodotti colorati, intorno ai quali si sta ora studiando nel mio gabinetto, ma che nulla depongono in favore della teoria pigmentaria; negli altri due nulla si è trovato nè nelle feci nè nella urina; nel 6°, benchè affetto da tubercolosi generalizzata (alimento misto), si ebbe sottile stria urobilinica nell'urina e notevole nelle feci: altrettanto dicasi del 7° (allattamento artificiale) malgrado la esistenza di una broncopneumonite.

Interessanti invece sono gli ultimi tre casi, tutti e tre pneumonitici, nei quali in dato momento della malattia, si sarebbe trovata, quantunque in tenue quantità, bilina nella urina e non nelle feci. A me pure è occorso un caso consimile, risguardante un malato da *spleno-epatite lenta non anemizzante in soggetto ateromatoso*, in cui però la differenza apparente fra la stercobilina e l'urobilina erano minime, qua invece si tratterebbe di mancanza (?) dell'una e presenza dell'altra, ciò che in verità riesce di difficile interpretazione.

In via generale però debbo fare osservare, che la piccola quantità di feci quale serve per simili osservazioni, non rappresenta affatto lo stato di tutta la massa fecale contenuta nell'intestino, tanto più che dalle osservazioni mie, di Zoja e da quelle del Mya, risulta che la stercobilina è irregolarmente distribuita lungo il tubo digestivo.

Debbo poi notare che il metodo di estrazione coll'alcool, specialmente acidulato, da me usato già prima che Jaksch lo proponesse, è infelicissimo perchè insufficiente ed ingannevole, — risulta da osservazioni fatte nel mio gabinetto da Zoja e dallo studente Cavalli che le stesse feci accuratamente mescolate perchè riuscissero omogenee, trattate con cloroforme (gr. 5 in gr. 10 di cloroforme poscia acidulato con una goccia di acido nitrico-nitroso), fanno vedere la stria di una determinata intensità, ad un centimetro di spessore, diluito ad $^1/_{225}$; mentre con alcool acidulato dopo, ad $^1/_{125}$ e con alcool acidulato prima con acido solforico, ad $^1/_{30}$, il metodo di ricerca dunque ha una grande influenza sui risultati.

Venendo ai casi del Giarrè, osservo finalmente che il risultato, espresso in maniera quasi dubitativa, si è avuto una sola volta e che nel primo essendovi notevole quantità di biliverdina, per l'assorbimento diffuso dello spettro, doveva riuscir difficile lo stabilire la esistenza o meno della linea d'assorbimento urobilinico.

II.

Nella 2ª parte del suo lavoro, il Giarrè, prende in esame 5 casi di malattie epatiche, di cui si serve nella discussione finale sulla patogonesi dell'urobilinuria, per affermarli favorevoli alla teoria pigmentaria.

Per vedere qual valore, in questo senso, abbiano, è necessario prenderli partitamente in esame.

Nel primo caso trattasi di una bambina di 4 anni degente in clinica per bronchite ed enterite, in cui si sviluppa un'itterizia catarrale: le urine prima prive di urobilina, comparsa la itterizia, mostrano contenere traccia di pigmento biliare, ed acidificate, stria in F; nelle feci si riscontra mediocre quantità di stercobilina. La itterizia si fa completa, le feci si fanno acoliche, crescono nelle urine i pigmenti biliari, scompare l'urobilina. Giunto il periodo della risoluzione, ricompare traccia di urobilina nelle urine, l'itterizia diminuisce sempre più, nulla dice delle feci, nota invece un aumento di bilina nelle urine, che, più tardi ancora, scompare essa pure.

Il secondo è un bambino di tre anni (pratica privata) itterico, con feci grigiastre (non dice altro) nell'estratto alcoolico delle urine; trattate col solfato d'ammonio, ottiene assorbimento diffuso, debole fluorescenza, più tardi, migliorando il bambino, scompare la reazione di Gemelin nelle urine, aumenta fortemente l'urobilina, più tardi ancora, questa diminuisce eppoi scompare — dell'esame delle feci non più una parola.

Il terzo riguarda un bambino di 11 anni, affetto da endocardite e grave stasi epatica, fegato a noce moscata.

Essendo ben compensato il vizio cardiaco, la ricerca della bilina nelle urine riesce negativa, ma rottosi il compenso, compare abbondante l'urobilina che si mantiene anche a condizioni molto migliorate del malato — delle feci non parla.

Il 4° è un caso d'epatite interstiziale (bambino di 8 anni), morto per tubercolosi generalizzata in cui si trova ripetutamente molta urobilina; nulla è detto della stercobilina.

Il 5° concerne una bambina pure di 8 anni, affetta da tubercolosi multipla e successiva degenerazione amiloide del fegato, in cui l'urobilina manca — delle feci non fa mai parola — ma accesasi, per insorta pleurite e peritonite, la febbre, se ne riscontra una debole traccia.

Il 6° è pure un caso di degenerazione amiloide molto analoga al precedente, in cui nelle urine non si trovò mai niente — delle feci non parla.

L' ultimo si riferisce ad un bambino affetto da pseudo leucemia splenica, con ipertrofia epatica, in cui la bilina urinaria si trovò in traccie appena sensibili; manca l' esame della feci.

Ed ora domando io quale appoggio possano dare questi casi alla teoria pigmentaria: essi non possono dire che una cosa sola — e da questo lato sono sicuramente pregevoli — che anche nei bambini, almeno di una certa età, le cose, riguardo all' urobilinuria nelle malattie epatiche, procedono così come negli adulti.

Trovare, come ha trovato il Giarrè nel primo caso, una traccia di urobilina nel periodo ascendente dell' itterizia mentre si riscontrava anche nelle feci, trovare in questo e negli altri, nel periodo discendente della medesima, urobilina in gran copia, nello stesso tempo che andava scomparendo la bilirubina, è cosa risaputa per gli adulti fino alla noia; ma dedurre da questo che la sola teoria accettabile dell' urobilinuria è la pigmentaria, troppo ci corre. Se il Giarrè avesse contemporaneamente alla urina esaminato anche le feci (l' esperienza sugli adulti ci autorizza a crederlo fermamente) avrebbe sicuramente trovato nella fase risolutiva un aumento su per giù corrispondente della stercobilina; e siccome questa non può sicuramente provenire all' intestino dal circolo, così si sarebbe accorto che i suoi casi d' itterizia, dal punto di vista dal quale in questo momento lo contempliamo, non hanno in verità alcun valore.

In questi ultimi tempi mi è capitato di studiare un caso di itterizia catarrale interessantissimo a questo riguardo.

Si tratta di una donna che ammala per disturbi gastrici verso il 3 del dicembre passato; il giorno 9 l' avvertono che è itterica, il giorno 13 entra in clinica, l' itterizia è intensa, il

fegato meno grosso, ma più resistente di quello che suol trovarsi in questi casi; è chiaro che la stasi biliare si è fatta sopra un terreno già compromesso, le urine fortemente itteriche misurano 500'; eliminato il pigmento biliare colla miscela di Liebig e l'eccesso di bario col solfato acido di soda, nel filtrato, portando la soluzione al primitivo valore dell'urine, la stria urobilinica si vede a 3 centimetri di spessore. Le feci, grigio giallastre (gr. 5), si trattano con cloroformio (gr. 10) e si acidifica, la stria si vede a quasi un cent. senza diluzione.

Giorno 15. — Urine cent. cub. 800, stria a 2 cent. e 1/2, mancano le feci perchè l'alvo e chiuso.

Giorno 18. — Condizioni dell'ammalata invariate. Urine forse un po' meno colorite, stria visibile ad 1 1/2, nelle feci, trattate nel solito modo, stria visibile ad 1 cent. del liquido diluito con alcool ad 1/4.

Giorno 19. — Urine sempre itteriche, feci sempre scolorite, stria visibile, nelle prime, ad 1 cent. e mezzo, nelle feci al ventesimo.

Giorno 20. — Le urine vanno scolorando. Feci sempre grigiastre, itterizia invariata, stria visibile nelle urine ad 1/2 cent., nelle feci ad un cent., diluito al 64mo.

Giorno 21. — Nella urina dubbia la reazione dei pigmenti biliari.

Giorno 22. — Itterizia diminuita. Urina reazione dei pigmenti biliari dubbia anche col metodo del Jolles, stria visibile ad 1/2 cent., acidificando, ad 1/8. Feci al trecentesimo.

Giorno 23. — La tinta itterica va sempre più scadendo. Feci ben colorite.

Giorno 24. — Urina, pigmenti biliari assenti, stria visibile direttamente ad 1/3, acidificando, ad 1/5. Feci copiosissime al 1/200.

Giorno 28. — Urina, stria visibile ad 1 cent. e 1/2. Feci al 60mo.

Giorno 30. — Urina stria visibile a 2 cent. Feci al 15mo.

Il caso mi sembra singolarmente dimostrativo senza bisogno di illustrazione; farò soltanto notare due cose, il perfetto paralellismo fra l'aumentare ed il diminuire dell'urobilina nelle urine e nelle feci ed il comparire l'aumento prima in queste che in quelle.

Ugualmente importante è il seguente caso di malaria, in cui l'urobilina è stata studiata in relazione con gli accessi febbrili. Si tratta di una quartana doppia, grave, con febbre fino a 39° il primo giorno, oltre i 40 al secondo.

24. Gennaio. — Urine corrispondenti al primo giorno di febbre, quantità 700 cc., estratto cloroformico (cent. cub. 3 su 10 di urine) stria visibile ad 1 cent. diluito 14 volte. Feci trattate pure con cloroformio (gr. 5 feci su cent. cub. 10 di cloroformio), stria visibile ad un cent. del liquido diluito con alcool 360 volte.

25 Gennaio. — Osservazione corrispondente al giorno dal 2^{do} accesso. Urina — estratto cloroformico, stria visibile ad 1 cent., solvente diluito al dodicesimo. Feci, come sopra, al 180^{mo}.

26 Gennaio. — Primo giorno di apiressia. Urina ad $^1/_4$. Feci al 120^{m}.

28 Gennaio. — Terzo giorno di apiressia. Urina estratto cloroformico diluito della metà. Feci al 60^{mo}.

31 Gennaio — Urine a 2 cent. Feci diluite al 9°.

Anche qui ogni illustrazione è superflua, l'accordo è perfetto e dimostra che l'emolisi determina l'urobilinuria inquantochè determina l'enterostercobilinia. È inutile aggiungere che la febbre è cessata per l'intervento terapeutico — chinino somministrato ipodermicamente.

Ma il Giarrè assai più che all'urobilinuria del periodo terminale dà peso a quella del periodo ascendente, *che è uno*, dice, *degli argomenti principali in favore della teoria pigmentaria*: in verità però leggendo quei suoi casi non trovo che abbiano importanza anche in questo senso, e credo non la troverà con me il lettore al quale li ho sinceramente riferiti. Infatti è solo nel primo che si riscontra scarsa quantità di urobilina nella urina, ma si riscontra pure nelle feci, nel 2° solo debole fluorescenza nell'estratto alcoolico della urina trattata con solfato d'ammonio, limitandosi per le feci ad indicarle come grigiastre, ciò che, come si sa, non basta, essendovi materie fecali affatto scolorite e tuttavia ricche di stercobilina; gli altri appartengono tutti al periodo discendente. Debbo poi aggiungere che trattandosi di urine itteriche l'acidificazione è pericolosa, risultandomi da esperienze ripetute che in un certo periodo della scala cromatica, che si ottiene trattando la bilirubina cogli acidi, si forma almeno un corpo che dà nettamente la fluorescenza zincica.

Sempre sullo stesso argomento, l'A. (pag. 42) facendo una rivista critica delle teorie urobiliniche, ricorda che il Ghe-

rard ed il Müller non ammettono l'aumento dell'urobilina nella fase ascendente dell'itterizia, ed aggiunge che questa però è stata dimostrata da Quincke, Mya, Patella ed Accorimboni e Bordoni negli adulti, Giarrè nei bambini. Che valore abbia quest'ultima dimostrazione abbiamo visto; in quanto al Quincke [1] quantunque non riporti alcun caso illustrativo, conclude dalle sue esperienze su pneumonici e cardiaci, per l'esistenza di 4 periodi itterici, un primo nel quale vi è coloramento della congiuntiva ed assai debole della pelle, non pigmento biliare nel siero del sangue e non pigmento biliare nella urina, nè urobilina, feci normalmente colorate; un secondo in cui la pelle è un po' più gialla, vi è pigmento biliare nel siero, solo urobilina nelle urine, feci colorite. Nel terzo, itterizia più forte ancora, pigmento biliare nel siero, pigmento biliare ed urobilina nelle urine, feci che tendono a scolorarsi. Nel quarto itterizia completa, feci poco o punto colorate, bilirubina nel siero, bilirubina nella urina senza urobilina.

Già in altro mio lavoro ho espresso dei dubbi sulla esattezza della reazione di Gmelin per la ricerca del pigmento biliare nel sangue, dubbi che sono notevolmente cresciuti dopo le rigorose ricerche di Jolles, [2] il quale studiando comparativamente venti dei diversi metodi fino ad ora proposti, è venuto alla conclusione che la reazione di Gmelin è già negativa al 4 °/₀ di una soluzione di bile di bue in orina, ciò che in altri termini vuol dire negativa ad un notevole grado di concentrazione del soluto; le difficoltà debbono poi crescere notevolmente trattandosi di siero sanguigno, giacchè il verde che si ottiene per l'aggiunta dell'acido nitrico-nitroso, salvo il caso di itterizia assai spiccata, suol essere così incerto da mettere in imbarazzo anche i più provetti sperimentatori; ma i miei dubbi, in queste circostanze, non si riferiscono soltanto alla sensibilità del processo, ma ancora e più alla sua veridicità; essendochè una tinta verde sporco si ottiene anche quando il pigmento biliare sicuramente manca.

È così che può spiegarsi come il Quincke abbia trovato, o

---

(1) QUINCKE, *Virchow's Arch.*, Bd. 95, 1884.

(2) *Zeitschr. f. fisiol. Chem.*, XVIII, s. 545, ff.

meglio ammesso, una classe di itterizie in cui si trova la sclerotica e, sia pur debolmente, la pelle colorita, nel sangue dei quali malati e nell' urina, non si riscontra nè bilirubina, nè urobilina, risultato che naturalmente deve accettarsi subordinatamente ai mezzi di ricerca dallo sperimentatore messi in opera.

Più importante assai è la seconda classe o stadio della itterizia ammessa dal Quincke, nel quale l' A. riscontra solo pigmento biliare nel siero e sola urobilina nelle urine, proprio quanto è necessario per dare il miglior appoggio alla teoria pigmentaria. Mi occorre però osservare che il Quincke non ha esaminato le feci, che si limita ad indicare colorate, ciò che toglie molto all' importanza delle sue osservazioni e lascia sempre aperta la via al dubbio che la bilina urinaria abbia altra origine della interstiziale; resta poi sempre a dimostrarsi che fra la bilirubinemia e la urobilinuria passa il rapporto di causa ad effetto, dimostrazione che non è ancora data e che per ragioni che verrò esponendo più tardi, non mi pare che per ora abbia probabilità di riuscita.

La quistione della bilirubinemia in rapporto all'urobilinuria è certamente interessantissima e racchiude per me uno dei punti più scuri del problema della urobilinegenesi, ma legare in catena i due fatti come vorrebbe la teoria pigmentaria e cavarne una teorica che spieghi la genesi dell' urobilina ed il suo comparire nell' urina, non è lecito senza mettersi in contradizione coi fatti più comuni della osservazione clinica e della patologia sperimentale.

Ad un cane giovane e sano ho aperto il ventre ed aspirato, con una siringa di Pravaz, dalla cistifellea, 8-10 centimetri cubi di bile che, endovenosamente, ho immediatamente iniettata nel torrente del circolo. In questo animale solo 10-12 ore più tardi, cominciò a comparire pigmento biliare nella urina, la bilirubinuria andò notevolmente aumentando nei due giorni successivi, poi, a poco a poco, diminuì sino a scomparire del tutto nel 4° o 5° giorno; di urobilina non se ne vide mai.

Lo scopo di questa esperienza è evidente: mettere a contatto dei tessuti, senza minimamente turbare il circolo e la funzione epatica, che non è mai normale anche nei primi momenti

di una semplice itterizia catarrale, della bilirubina ed attendere che venga, come la teoria pigmentaria esige, ridotta in urobilina ed eliminata per la via del rene; orbene questo animale ebbe bilirubinuria ma mai traccia di urobilina nelle urine, sicchè il pigmento biliare ha potuto liberamente circolare per 4 e più giorni in contatto coi tessuti, senza che una cellula sola pensasse ad aggredirlo e tanto meno ad urobinizzarlo.

So bene che questa esperienza ed altre consimili, che per me hanno un significato assai grande, non ne avrà nessuno pel Giarrè che, come ogni altro pigmentarista, nega alla cellula dei tessuti canini ogni potere riduttivo; ma permetta che gli dica che se questa impotenza è per me accettabilissima per la bilirubina, anzi nei limiti della urobilinogenesi, comune cogli altri animali, non lo è per altre sostanze consimili e precisamente per l'urobilina, che secondo certe esperienze che un giovane allievo va istituendo nel mio gabinetto, viene in parte distrutta.

In un giovane cane da caccia, bastardo, venne iniettata in circolo una forte quantità di urobilina preparata con un processo che sarà fatto noto a suo tempo; il cane non risente alcun inconveniente dall' iniezione fatta e seguita ad emettere abbondantemente urina, che non contiene nemmeno una traccia di urobilina. — Dove è andata a finire questa sostanza? in che corpo si è trasformata? ecco uno dei problemi che fo appunto studiare, intanto però essa è scomparsa come urobilina e questo non può essere avvenuto, per ora penso, che per opera dei tessuti.

Ma il fatto più importante di questa esperienza è il seguente: mentre l' urina del cane era priva di urobilina, si riscontrarono invece tracce di pigmento biliare già poche ore dopo l' iniezione, bilirubinuria manifestissima il giorno dopo e così per due giorni di seguito, dopo di che, cominciò a diminuire e scomparve.

Ecco un risultato che deve riuscire di una grande sorpresa ai fautori della teoria pigmentaria, perchè, apparentemente almeno, sconvolge le loro idee sulla urobilinogenesi; non è più la bilirubinemia che provoca la urobilinuria, ma l'urobilinemia che provoca la bilirubinuria.

Ritornerò con copiosa messe di fatti su questo argomento in un prossimo lavoro, intanto parmi che la presente osservazione prometta di dar la chiave per spiegare più di un fatto relativo al nostro studio e più particolarmente delle osservazioni di Grim, il quale asserisce di aver trovata bilirubinuria in coincidenza di forte (?) urobilinuria provocata artificialmente con sopralimentazione albuminoide.

Ma a parte tutto questo, la presente esperienza mentre appoggia l'idea da me più volte espressa in altri lavori, che parte dell'urobilina assorbita dall'intestino venga distrutta in circolo, molto toglie all'opposizione fatta anchè dal Giarrè che la teoria enterogena non è accettabile, perchè non si spiegherebbe *come il cane il quale ha feccie ricche di urobilina ed è abitualmente stitico non presenti urobilinuria anche nelle condizioni patologiche più propizie, ad esempio nell' avvelenamento da pirodina*, e così pure che nell' uomo normale, malgrado che abbia tanta stercobilina, non emetta che pochissima urobilina per le urine.

Quincke peraltro asserisce che nella sua seconda classe di itterici, nel sangue ha trovato solo bilirubina e non urobilina. Malgrado l' indiscutibile valore dello Sperimentatore, tenendo conto del metodo a cui è ricorso per rintracciare l' urobilina ho motivo di dubitare dell' esattezza dei suoi risultati, ad ogni modo poi debbo far osservare al dottor Giarrè, che ove questa obiezione avesse valore per la teoria intestinale l' avrebbe pure per la pigmentaria; giacchè se è nei tessuti (*cute, rene, fegato, sistema nervoso, sangue*) come asserisce il Mya e lo stesso Giarrè a pag. 44 del suo lavoro, e non nel solo rene, che l' urobilina si forma, non saprei vedere un perchè non possa, anzi non si debba, trovare in circolo dove deve pur passare per essere portata al suo naturale emuntorio.

Inoltre lo stesso Quincke narra il caso di una ragazza sifilitica, probabilmente affetta da ittero catarrale, in cui la cute si fece rapidamente gialla e le feci si fecero scolorite; lo studiò fin dall' inizio; ma nell' urina non trovò mai nè urobilina nè pigmento biliare; e di altri due risguardanti avvelenamento da fosforo, per me interessantissimi perchè confermano mie antecedenti osservazioni, nei quali, malgrado un' intensa itte-

rizia, non trovò nella urina che poco pigmento biliare, non urobilina.

A questo proposito il Giarrè dice, od almenò lascia capire, che le dichiarazioni di Gherard e Müller (¹), i quali riferiscono di aver trovata urobilina nel sangue, nella bile e nei trasudati, non sono accettabili perchè fatti *post mortem*, quando cioè *era già intravvenuto il coeficente della putrefazione*; posso però garantirgli, ove non voglia accettare le mie precedenti esperienze, che nei liquidi ascitici delle cirrosi epatiche estratti col trequarti, il trovare ed in discreta copia l'urobilina è tutt' altro che un fatto straordinario, e che nella bile cavata dall'uomo vivente come io ho potuto fare in due operati del Ceccherelli, quantunque fosse freschissima, starei per dire vivente, la urobilina è stata trovata ed in quantità relativamente rilevante.

Anche il Mya, i cui lavori hanno largamente concorso allo studio dell'urobilinuria e contribuito a completare la teoria pigmentaria, non riporta effettivamente che un caso solo, il primo (²), in cui venne largamente constatata l'urobilinuria all'esordio dell' itterizia; gli altri o sono della fase terminale, o riguardano malati ripetutamente itterici per calcolosi biliari, la cui importanza è nulla o minima per le condizioni abnormi in cui trovasi sempre il fegato in questi casi, in tutti poi manca, come al solito, l'esame delle feci e quindi del contenuto urobilinico dell'intestino.

Venendo ai casi di Patella ed Accorimboni, io debbo supporre che al Giarrè siano sfuggite, nella lettura, alcune particolarità che a mio avviso tolgono loro ogni importanza nella questione: — sono due — pel primo gli AA. dichiarano che durante *l'acuzie* (della malattia) *le feci apparvero sempre grigio-giallastre chiare*, ma *ad onta di questo colore non vi mancò mai l'urobilina in quantità più o meno rilevante*, e pel secondo che *le feci furono sempre grigiastre, poi si fecero ben colorite e contennero sempre abbondante quantità di urobilina.* Queste osservazioni, uniche

(¹) A cui poteva benissimo aggiungere anche lo scrivente.

(²) G. Mya, *Sulla fisiopatologia della itterizia.* (Archivio italiano di clinica medica, anno XXX, 1891.)

forse nella letteratura, sono bensì importanti, ma nel senso che dimostrano come anche nel primo periodo dell'itterizia da stasi il contenuto urobilinico dell' intestino possa essere abbondante e che, cosa del resto già nota, ciò può avvenire anche essendo le feci grigiastre, o, come in uno dei miei casi, affatto scolorite — tolgono finalmente valore all'opposizione ripetuta anche dal Giarrè, che a detto periodo corrispondendo una diminuzione di flusso biliare nell'intestino, dovrebbe corrispondere pure una diminuzione nella formazione della stercobilina e quindi, data la teoria intestinale, nell' urina una diminuzione e non un aumento, come per lo contrario si verifica, opposizione apparentemente grave ma che poggia sopra un errore, quello di tener conto solo della quantità e non della qualità della bile che, come io ho dimostrato in altro lavoro, ha un' importanza grandissima sulla genesi della urobilinuria.

Ma se quanto ho pubblicato altrove non gli sembrasse sufficiente, ponga mente il dottor Giarrè alla seguente esperienza che mi sembra indiscutibilmente dimostrativa.

In un cane giovane assai (femmina) non urobilinurico, faccio iniettare nell'intestino (parte superiore del tenue), mediante una siringa Pravaz, 25 centimetri cubi di bile tratta da un cadavere fresco, ben conservato ed immune da qualsiasi lesione epatica — la bile è di quel color rossastro e di quel particolare aspetto che reputo uno degli indizi più sicuri per la sua facile trasformabilità in urobilina, contiene una piccola quantità di urobilina, una quantità enorme di bilirubina.

Rimessosi l'animale dalla narcosi a cui era stato sottoposto, 16-18 ore dopo l'operazione, emette le urine che, corrispondentemente alla mia aspettativa, trovo così fortemente urobiliniche, che ad un solo centimetro di spessore (senza alcun trattamento) si vede la stria in F. In queste stesse urine si trova inoltre notevole quantità di bilinogene; sicchè, facendo una lavatura cloroformica (sono decisamente alcaline) si trae il solvente, perfettamente bianco, ma che subito volge al giallo appena si aggiunge una goccia di acido nitrico-nitroso, e chiarificato con aggiunta di alcool assoluto presenta una larga intensa stria dell'urobilina.

Inutile dire che contemporaneamente cresce a dismisura tanto l'urobilina quanto il bilinogene delle feci. Il cane resta urobilinurico per cinque o sei giorni, poi torna nello stato di prima ed è sfruttato per altre esperienze.

Questa esperienza o io mi inganno o ha tale importanza che risolve quasi da sè sola, pressochè tutte le questioni dell' urobilinogenesi e dell' urobilinuria — dice della formazione dell'urobilina nell' intestino, depone pel suo assorbimento, della sua formazione (in quantità sufficiente) da una bile di speciale composizione; dice finalmente della sua eliminazione per la via del rene — ad un cane si inietta bile nel sangue e, contrariamente a quanto vorrebbe la teoria pigmentaria, diventa biliribinurico e non urobilinurico — si inietta bile nell'intestino e, sempre contrariamente a detta teoria, non diventa birilinurico ma urobilinurico: — io non so che cosa si possa esigere di più perchè una tale teoria sia sfatata, ma nello stesso tempo non saprei prevedere cosa di più si possa pretendere perchè sia dimostrata la verità di quanto ho esposto nella teoria da me immaginata, che per intender l' urobilinuria considero appunto questi due elementi, l'assorbimento intestinale e la sua formazione nell'intestino da una bile particolarmente costituita.

Non insisto più a lungo su queste mie esperienze, a cui potrei aggiungerne altre, perchè sono ancora allo studio e formeranno oggetto di una prossima pubblicazione di un mio giovane allievo — che attualmente sta lavorando nel mio gabinetto: — quanto però ho esposto mi sembra sufficiente al mio scopo, ed è solo per dimostrare che anche gli argomenti di ordine puramente clinico conducono allo stesso risultato, che continuo nella rivista critica da me incominciata.

Meno dimostrative ancora, anzi del tutto insignificanti, pel nostro argomento, sono le osservazioni del Bordoni ([1]), il quale ne riferisce *14* così repartite: *cinque itterizie da malattie epatiche* (due da calcolosi, due da malattia di Weit, una da neoplasma) *6 da infezione malarica*, *una da infezione pneumonica*, *una da infezione puerperale.*

([1]) *Sulle teorie pigmentarie dell' urobilinuria.* Siena, 1898.

In tutti questi casi l'A. studia comparativamente la pre-[illegible] nel sangue e nelle urine della bilirubina e della urobilina [illegible] indicare con precisione il momento in cui fa l'esame o [illegible] chiaramente che coincide col periodo di discesa dell'it-[illegible], solo in uno potè sorprendere la fase iniziale e trovò, dopo un accesso di colica, pigmento biliare nel sangue ed urobilina nelle urine, ma trattandosi di calcolosi biliare e di accessi ri-[illegible] non può esser presa in considerazione, giacchè per le con-dizioni del fegato in questi casi è comune trovare urobilinuria anche nel periodo d'intervallo fra itterizia ed itterizia.

III.

Interessanti assai nella terza parte del lavoro del Giarrè sono le ricerche sulla itterizia dei neonati, che sono concordi con quelle di molti osservatori, me compreso, ma discordi affatto con quelle dei dottori Cecchini e Zannetti [1], che quantunque fautori della teoria pigmentaria, l'A. ha dimenticato di prendere in considerazione.

Cecchini e Zannetti avrebbero trovato un primo gruppo di bambini (16), tutti itterici, nei quali la urobilina nell'urina *fu notata fino dal primo giorno della nascita.* È notevole il fatto che l'urobilinuria era più cospicua e più durevole nei deboli che nei robusti: *in media fu costante per quattro giorni di seguito,* poi scomparve.

In un secondo gruppo (45) fu più cospicua nel secondo giorno, ma in media anche in questi scomparve nel 4°; nella maggior parte non si notò itterizia, o solo nei gracili: nei robusti non la videro che due volte sole e lieve. È da notarsi che per la ricerca della urobilina si servirono sempre della sola osservazione spettroscopica diretta delle urine acidificate, oppure addizionata con tintura di jodio.

---

(1) *Sulla itterizia dei neonati,* ricerche dei dottori Cecchini e Zannetti. Tipografia Boncompagni, Perugia, 1893.

Di fronte a questi insoliti risultati, non volendo dubitare dell'esattezza delle osservazioni, e tenuto conto che in media tutte le numerose urine esaminate al 4° giorno, non mostravano più urobilina, che anzi nei bambini robusti *non si prolungò oltre i tre giorni*, a spiegare il fenomeno non ho che un'ipotesi sola da fare, che l'urobilina trovata fosse un derivato della madre e non una produzione dei bambini in esame: peccato che non sieno state esaminate le urine e le feci delle donne da cui tali bambini provenivano.

Su questo argomento (itterizia dei neonati) le dichiarazioni del Giarrè sono quanto mai esplicite e decisive: ne ha osservati 10 casi raccogliendone l'urina in fasi diverse della malattia e, naturalmente contro la sua aspettativa, non ha mai trovata urobilinuria. *In tutti questi casi*, dice, *di gravità diversa* (si noti che uno durò oltre un mese) *malgrado ripetute analisi il reperto urubilinurico fu pressochè negativo, perchè mai nella soluzione alcoolica ottenuta mediante estrazione con solfato di ammonio, mi riuscì di vedere allo spettroscopio una stria distinta e caratteristica e solo in qualche prova con detta soluzione pura, trattata col solito reagente zinco-ammoniacale, ottenni una debole fluorescenza.*

Sicchè resta fermo, si può ben dire per concorde opinione, che nell'itterizia dei bambini, quantunque assai raramente acquisti una grande intensità, nè saturi mai i tessuti di pigmento biliare, nelle condizioni quindi le più favorevoli invocate dalla teoria pigmentaria per la produzione dell'urobilina, urobilina non se ne trovò mai o solo traccie nei primi giorni della vita dei neonati; ed ora domando io come mai possa accadere, dato che l'urobilinuria sia la conseguenza della riduzione che i tessuti non saturati di pigmento biliare esercitano sulla bilirubina circolante, che in questa forma di malattia, la quale riassume le condizioni più favorevoli perchè il fenomeno si verifichi, questo non si verifichi mai.

Il Giarrè ha sentito tutto il peso di questa obiezione e cerca di sfuggirla con un ipotesi: — il rene, dice, nel primo periodo della vita extra uterina, per lo sforzo che fa nel depurare l'organismo della *quantità più abbondante di azoto che si forma in tale periodo*, condizione resa anche più grave quando

si tratta di itterici, si trova in particolari condizioni nelle quali gli manca quel potere riduttivo che ha in condizioni ordinarie e che acquisterà sicuramente più tardi. D'altro lato è noto, aggiunge, che in questa forma di itterizia la bilirubina non è disciolta nelle urine, ma per lo più sotto forma di cristalli, sicchè ne riesce difficile la dimostrazione anche colle più delicate reazioni.

Non è chi non vegga tutta la vulnerabilità grande di questo argomento, tratto da illazioni puramente aprioristiche. Se, come la teoria pigmentaria vuole e lo stesso Giarrè ripete (pag. 44), la urobilina è l'opera della riduzione della bilirubina in urobilina fatta *dall'organismo umano vivente ossia da molti dei suoi tessuti*, non si sa comprendere perchè essendo ammalato, o supposto ammalato, il solo rene, l'urobilina non comparisca in una certa quantità: debbo pur far notare al dottor Giarrè che colla sua ipotesi è proprio agli antipodi coi suoi correligionari in fede urobilinica i dottori Cecchini e Zannetti, i quali viceversa hanno supposto che la cellula renale nella suddetta condizione o periodo di vita, *possano avere una potenza riduttrice più rilevante che negli adulti.*

Finalmente chiamerò l'attenzione dell'A. sopra alcuni casi di itterizia pubblicati dal Patella e da Accorimboni, Autori certo non sospetti perchè frequentemente citati come validi sostenitori della teoria pigmentaria.

I casi a cui alludo si leggono nel noto lavoro *l'urobilinuria nell' itterizia* pubblicato nell' Archivio Clinico Italiano dell' anno 1891 a pag. 493, e si riferiscono ad itterizie insorte, dicono gli Autori, *in seguito all' assunzione di felce maschio.*

Nel primo di questi casi - sono 7 - gli AA. trovarono urobilina nelle urine ma anche nelle feci, negli altri 6 invece non si riscontrò, dicono, contro la aspettativa, *abbondante urobilinuria, anzi vera urobilinuria non si riscontrò mai*: per essere più esatti avrebbero dovuto dire che di *urobilinuria*, nè vera nè non vera, non se ne ebbe affatto, giacchè nel 2° di urobilina in quantità rilevabile non si trovò che un giorno solo nel 3° *in onta che per due giorni fosse sufficientemente apprezzabile la reazione dei pigmenti biliari non fù mai dato osservare urobilinuria*, così pure nel

5° e nel 6°; nel 4° l'urobilina apparve solo in quantità apprezzabile, nel 7° malgrado che la itterizia durasse una settimana, di urobilina non se ne vide *che qualche traccia.*

Quasi tutto questo non bastasse, gli AA. aggiungono inoltre che non riportano altri 6 casi di loro osservazione nei quali l'ittero fu evidente *ma mancò l'urobilinuria*: ed ora, mi torno a domandare, come va che la bilirubina pur circolando liberamente e talvolta lungamente a contatto coi tessuti, non venne mai ridotta? Qui non si tratta più di tessuti canini o di neonati in cui a beneplacito di una teoria si suppone una speciale condizione del rene; qui abbiamo a fare con adulti di 50 e più anni, in cui l'urobilinuria si può dire è mancata, mentre corrispondentemente alla teoria professata si *attendeva* abbondante; egli è che la teoria pigmentaria, così almeno come è formulata, italiana o no, non è vera e che per quanto vi sieno ancora dei punti oscuri, il fenomeno urobilinuria non si arriverà mai a comprenderlo se non si tien conto degli elementi da me indicati — l'intervento intestinale e la composizione della bile — e di un altro elemento ancora, cioè la parziale distruzione in circolo della urobilina assorbita dall'intestino. Il Giarrè, non so perchè, parlando della importante esperienza del Müller (la ricomparsa della bilina nelle urine *in un malato affetto da chiusura completa del colodoco* dopo la somministrazione per la via della bocca di bile di maiale, non di bove), dice che lo stesso Autore riconosce che la sua esperienza non può sottrarsi a molte critiche *nè vi annette molta importanza.* Ho letto il lavoro del Müller [1] e non mi è occorso di vedere espresso un simile pensiero o dubbio; ad ogni modo poi l'abbia o non l'abbia espresso, l'esperimento rimane sempre in tutto il suo indiscutibile significato.

Il Giarrè finalmente parlando dei miei lavori dice *che ho modificata in parte la mia idea anteriore.* Non ho bisogno di ricordare al Giarrè che l'argomento dell'urobilinuria è terreno su cui delle evoluzioni se ne sono fatte molte; ma non parmi

---

[1] *Ueber Icterus.* (Schlesische Gesellschaft für Vaterlandische Cultur, Jahresbericht, 1894.)

che questa accusa, se accusa può chiamarsi, mi possa essere rivolta.

Fin dal mio primo lavoro sull' urobilinuria comparso nel 1888, ho, collo Zoja, espresso il pensiero che la bilina della urina derivi, come penso oggi, se non assolutamente tutta, in massima parte dall' intestino, e sin d' allora non mancavamo di mettere in vista che la composizione della bile (pag. 4 ed altre) poteva avervi una parte importante, sicchè parmi che gli elementi della mia teoria, con maggior dovizia di fatti esposta più tardi, esistessero fin da quel momento. Le mie idee sulla urobilinuria, lo creda il dottor Giarrè, non si sono modificate, solo col più lungo studio si sono rese più precise e più complete; la teoria epato-intestinale da me creata non ne è che la sintesi.

Parma, gennaio 1896.

Istituto Anatomico di Firenze, diretto dal prof. G. Chiarugi.

OSSERVAZIONI COMPARATIVE
SULLO SVILUPPO E SUI CARATTERI DEFINITIVI
DELLA CAVITÀ DEL QUARTO VENTRICOLO AL SUO ESTREMO CAUDALE.

NOTA RIASSUNTIVA [1]
(con 1 tavola)

DEL
DOTT. RUTILIO STADERINI
Libero Docente di Anatomia.

Con una mia nota preventiva, pubblicata tempo addietro nel *Monitore Zoologico Italiano* [2], richiamai l'attenzione sopra una particolarità anatomica da me osservata nel bulbo rachidiano. Per alcune mie ricerche fatte principalmente sui mammiferi avevo potuto rilevare che nella zona di passaggio tra midollo spinale e bulbo insieme col canal centrale propriamente detto coesiste sempre un'altra cavità più dorsalmente situata, e che queste due cavità in avanti finiscono per confluire e formare la cavità unica del quarto ventricolo, mentre indietro rimangono affatto indipendenti, finchè quella dorsale poco alla volta si oblitera, quella ventrale si continua senza interruzione nel canal centrale propriamente detto.

Riportandomi a quella fase embrionale, in cui il c. centrale in tutta la lunghezza del midollo è suddiviso in due cavità secondarie, emisi l'ipotesi che nel reperto da me ottenuto nel-

(1) Il lavoro completo, corredato di due doppie tavole, fa parte delle *Pubblicazioni del R. Istituto di Studi superiori pratici e di perfezionamento in Firenze — Sezione di Medicina e Chirurgia* — Firenze, tip. Carnesecchi, 1896.

(2) *Del modo di terminare del canal centrale nel bulbo rachidiano* (*Monitore Zoologico italiano*, anno 5, n. 9. Firenze, 1894).

l'adulto fosse da riconoscersi una condizione embrionale fattasi definitiva. Però questa ipotesi, per quanto a mio parere molto ragionevole, non avendo allora un largo suffragio di fatti, venne emessa con le dovute riserve. Era pertanto necessario ripetere le osservazioni su più larga scala, ciò che venne fatto estendendo le ricerche alle cinque classi dei vertebrati.

Pesci

Nella *Torpedo ocellata* ho tenuto dietro alle trasformazioni, che il canal centrale subisce durante la ontogenesi in quella zona, che segna il passaggio tra midollo spinale e bulbo ed ho potuto verificare quanto segue.

In un primo periodo rappresentato da un embrione di *Torpedo* (fig. I) della lunghezza di 22 mm., il c. centrale è rappresentato nel midollo cervicale da una lunga fessura, leggermente dilatata nella porzione più dorsale (fig. I, 1). Nel midollo allungato, mano a mano che si procede in direzione craniale, il canale va sempre più ampliandosi dorsalmente, cosicchè il quarto ventricolo che in tal maniera si viene formando, risulta costituito da una porzione dorsale rigonfiata a guisa di una vescicola rotondeggiante, a cui fa seguito la porzione ventrale assai più ristretta (fig. I, 2, 3, 4). In nessun punto però la detta cavità si presenta suddivisa, ma la parte slargata comunica liberamente con la parte ristretta. A questo stadio si può dire perciò che dal c. centrale si passa direttamente nel seno romboidale, e che questo è da considerarsi un semplice slargamento di quello.

Se esaminiamo uno stadio di sviluppo più inoltrato (fig. II), si nota questo di caratteristico, che ad un certo punto, che corrisponde al confine tra midollo e bulbo (fig. II, 2), la porzione dorsale più rigonfiata *b* del c. centrale è separata dalla rimanente porzione ventrale più ristretta *a*, per mezzo di un ponte cellulare solido. Per cui in sezione trasversa si hanno qui due cavità, indipendenti l'una dall'altra *a*, *b*. Cranialmente il setto

che le divide ben presto sparisce e così le due cavità non ne formano più che una sola, il quarto ventricolo, che va sempre acquistando in ampiezza (fig. II, 3, 4 $a+b$).

Distalmente, delle due cavità quella più dorsale sempre più rimpiccolendo finisce poco dopo per scomparire completamente, quella ventrale si continua invece direttamente nel canal centrale del midollo spinale (fig. II, 1, a). Fino da questo momento dunque nella *Torpedo* il c. centrale, per un breve tratto del midollo allungato, si mostra suddiviso in due cavità secondarie.

Lo stesso fatto si ripete in un periodo più avanzato (embrione di *Torpedo* di 36 mm.) con questa differenza, che le due cavità non sono più tanto ravvicinate, ma sono ad una distanza molto maggiore, poichè il tramezzo che le divide non è più costituito da un sottile ponte cellulare, ma sivvero tra l'una e l'altra intercorre tutta la metà dorsale della midolla allungata. Ciò è spiegabile con lo sviluppo notevole che va via via assumendo l'organo, mentre non è da porsi in dubbio che siamo in presenza di una condizione perfettamente simile a quella dello stadio precedente, poichè qui pure le due cavità, tappezzate da un epitelio eguale, si comportano alla stessa maniera.

Cranialmente infatti esse confluiscono in una sola cavità (IV ventricolo), distalmente una si oblitera, l'altra continua come c. centrale propriamente detto.

Se da questi stadi embrionali si passa allo stadio definitivo dell'adulto (*Torpedo ocellata*, *Pristiurus melanostomus*) si osserva che la coesistenza di due cavità nella solita regione del bulbo si è resa permanente. Un'altra differenza però è da notare: nell'adulto la cavità dorsale distalmente non è aderente alla superficie corrispondente del bulbo, tanto che apparisce in sezione trasversa come una piccola vescicola epiteliale, isolata (fig. III, 2, 3, b), la quale poi ingrandisce e si addossa alla superficie del bulbo (fig. III, 4), finchè (fig. III, 5) la cavità in essa contenuta si fonde secondo il solito con l'altra cavità più ventrale a, donde ne risulta la unica cavità del quarto ventricolo $a+b$.

Anfibi e Rettili

Rettili. — In un embrione di *Lacerta muralis* della lunghezza di 28 mm. nella parte distale del bulbo si ritrovano le solite due cavità, ventrale e dorsale; la prima è rappresentata dalla continuazione del c. centrale propriamente detto, la seconda da una vescichetta epiteliale, applicata alla superficie dorsale del bulbo. Queste due cavità sia in alto che in basso si comportano come nei pesci.

In un esemplare adulto di *Varanus arenarius* della lunghezza totale di 70 centimetri si osserva che nella porzione distale del bulbo la pia madre, addossata nel midollo cervicale alla periferia dell'organo, se ne discosta, e passando a una certa distanza dalla fessura mediana posteriore limita uno spazio, il quale viene ad essere occupato da una membranella sottile, epiteliale, limitante una piccola cavità. Questa piccola cavità, dorsalmente situata al c. centrale propriamente detto, è perfettamente paragonabile a quella descritta nella *Torpedo.* Per cui anche nei rettili (e l'osservazione è stata confermata in esemplari di *Lacerta viridis* e di *Lacerta muralis*) ad una certa altezza del bulbo compaiono due cavità, che in avanti e indietro si comportano nella maniera solita. Aggiungo che nel *Varanus* si può notare come la sostanza gelatinosa centrale, per il divaricarsi dei due cordoni posteriori, viene a farsi poco alla volta superficiale e a costituire da sola il setto divisorio tra le due cavità. Ed è a traverso a questo setto che le medesime si fanno strada per comunicare fra loro.

Anfibi. — Con l'esame del bulbo di un esemplare adulto di *Rana esculenta* ho potuto constatare la perfetta rassomiglianza, che esiste per rispetto alla particolarità suddescritta, tra questa classe di vertebrati e i rettili; il che mi dispensa da ogni dettaglio descrittivo.

Uccelli

In embrioni di pollo da 11-18 mm. il canal centrale non presenta nel bulbo alcuna suddivisione. Ma oltrepassato questo periodo dello sviluppo, sia per quello che riguarda l'embrione, sia per quello che riguarda l'adulto, si ha negli uccelli una disposizione simile a quella sopra ricordata. Chi volesse prendere idea delle lievi differenze, che esistono fra i diversi esemplari studiati, potrà ricorrere alla memoria completa (1), nella quale insieme alle altre son riportate pure le figure relative agli uccelli.

Mammiferi

La suddivisione del canal centrale nel bulbo s'incomincia a vedere in embrioni di cavia di mm. 18-21, mentre manca affatto in stadi più giovani (cavia di mm. 15, coniglio di mm. 11): si presenta cogli stessi caratteri che nell'embrione di *Lacerta*, di pollo, ecc.

Nell'adulto (coniglio, cane, ecc.) la disposizione è sempre la stessa. Nella solita porzione distale del bulbo la pia madre si solleva alquanto dalla superficie dorsale dell'organo per far posto ad una vescicoletta epiteliale, la quale in principio molto piccola e indipendente dal c. centrale propriamente detto, si amplia e si avvicina sempre più al c. centrale, e con questo più in alto comunica liberamente. La cavità risultante da questa fusione è il quarto ventricolo. Nessuna differenza sostanziale esiste dunque tra i mammiferi e le classi inferiori: unico particolare, degno di nota, è che nei mammiferi quel tessuto gelatinoso, che forma il setto divisorio tra le due cavità del bulbo, si differenzia nettamente dalle parti circostanti in uno zaffo a sezione trasversa triangolare. Le due cavità si aprono una via di comunicazione a traverso lo zaffo medesimo, il quale viene per tal modo ad esser diviso in due metà, le quali riman-

(1) Loc. cit.

gono applicate sotto forma di accumuli gelatinosi sul pavimento del quarto ventricolo e dopo un certo tratto finiscono per scomparire. Lo zaffo gelatinoso non si limita quindi a formare il tramezzo dei due canali, ma si prolunga all'innanzi anche dopo che questi hanno confluito fra di loro.

Per riguardo all'uomo, ecco che cosa si rileva dall'esame di tagli seriali di un bulbo di neonato (fig. V). A quel livello della parte distale del midollo allungato, in cui la fessura mediana posteriore per il divaricamento dei cordoni posteriori si è fatta abbastanza larga e profonda, la sostanza gelatinosa centrale, come nel coniglio, dorsalmente al c. centrale si differenzia in uno zaffo triangolare, che occupa tutto l'intervallo che intercede tra fondo della fessura posteriore e c. centrale (fig. V, 1, *x*). In mezzo alla base di questo zaffo, rivolta superficialmente e rivestita solo dalla pia madre, compare più in alto una piccolissima cavità tappezzata da epitelio (fig. V, *b*). È questa la solita cavità, che abbiamo più sopra descritta e che si trova sempre a questo livello a raddoppiare il c. centrale propriamente detto. Questo e quella infatti ingrandendo vengono più all'innanzi a confluire in una sola cavità, all'interno della quale fanno sporgenza le due metà, in cui è rimasto diviso lo zaffo gelatinoso *x* (fig. V, 2, 3, 4). Seguitando l'esame in direzione craniale, allorquando questa unica cavità, che non è altro che il quarto ventricolo, si è notevolmente ampliata e già si comprende col taglio la parte più caudale del cervelletto (fig. V, 5, *c*), allora nel pavimento ventricolare non rimane più traccia degli accumuli suaccennati di sostanza gelatinosa, e la tela coroidea formante la vôlta del ventricolo, che era finora in tutta la sua estensione uniformemente sottile, si ispessisce lateralmente in due grosse lamine midollari incurvate su loro stesse (fig. V, 5, *y*). Questi ispessimenti sono bene sviluppati soltanto nell'uomo, almeno per quello che risulta dalle mie ricerche.

Nell'uomo adulto press'a poco gli stessi fatti.

Riepilogando, il fatto caratteristico verificato in tutte e cinque le classi dei vertebrati è questo. Che oltrepassato un

certo stadio dello sviluppo, dal canal centrale unico del midollo cervicale si passa alla cavità del IV ventricolo per l'intermezzo di due canali; in altre parole il quarto ventricolo non è un semplice e graduale ampliamento della porzione dorsale del c. centrale propriamente detto, ma risulta invece dalla fusione di due canali distinti.

Quali siano i caratteri, che contraddistinguono questi due canali in una serie di sezioni trasverse l'abbiamo già veduto. Vediamo ora come essi si presentano in una sezione longitudinale e così potremo meglio farci idea dell'aspetto, che presentano nel loro insieme.

Dall'esame di una sezione longitudinale del bulbo, come chiaramente apparisce dalla figura IV (coniglio adulto), si rileva che la tela coroidea *c*, la quale da sola forma indietro il tetto ventricolare, non va dalla parte inferiore del cervelletto a continuarsi direttamente con l'epitelio del c. centrale *a*, ma si porta invece al didietro della parete dorsale del bulbo e solo dopo un certo tratto si addossa alla parete medesima, formando così un cul di sacco *b*. È precisamente per questo modo di comportarsi della vôlta ventricolare, che si costituisce una cavità secondaria, dorsalmente situata al c. centrale propriamente detto e che in sezione trasversa apparisce come una vescicola epiteliale.

Dalla stessa sezione longitudinale (fig. IV) risulta, che il c. centrale propriamente detto *a* nell'avvicinarsi al quarto ventricolo non va facendosi via via più superficiale, ma trovasi sempre ad una certa profondità e ricoperto da una parete dorsale abbastanza spessa, la quale al suo estremo craniale, come l'han dimostrato i tagli trasversali, è costituita dallo zaffo gelatinoso.

Dove corrisponde per la sua posizione questo zaffo e come si presenta veduto in superficie? A farsene idea basterà scoprire in un bulbo intiero la parte distale del quarto ventricolo, distaccando la tela coroidea, che ne forma la vôlta. Si vede allora che l'angolo posteriore della fossa romboidale (*calamus scriptorius*) è occupato da un ammasso triangolare incuneato tra le due clave, il quale in avanti dividendosi si prolunga in due bandellette, che costeggiano i corpi restiformi.

Questa produzione così formata non è altro che lo zaffo gelatinoso con i suoi prolungamenti. Laddove lo zaffo si divide, cioè al dinanzi del *calamus*, corrisponde il punto nel quale i due canali si fondono fra loro; ivi infatti osservando attentamente tra zaffo e pavimento ventricolare si nota una piccolissima apertura.

Lo zaffo gelatinoso, come ora l'abbiamo descritto, esaminato cioè in superficie corrisponde per tutti i suoi caratteri a quelle produzioni, che sono note in anatomia sotto il nome di *obex* e di *ponticulus*. Mentre però all'*obex* e al *ponticulus* si è dato finora da tutti il significato di ispessimenti del tetto ventricolare, di rudimenti cioè della primitiva vôlta nervosa, le nostre osservazioni ci han rivelato che le dette produzioni non hanno nulla che fare con la vôlta del ventricolo. Esse risultano di tessuto gelatinoso, di uno zaffo triangolare cioè, che forma il setto divisorio tra i due canali del bulbo e che si prolunga in due bandellette applicate di contro ai corpi restiformi. Come abbiamo veduto nell'uomo, questi prolungamenti più all'innanzi terminano e ad essi succedono due forti ispessimenti laterali del tetto ventricolare.

Nella vôlta, che chiude la porzione distale del quarto ventricolo è da distinguersi quindi una porzione posteriore, in cui la vôlta medesima (tela coroidea) non presenta ispessimenti di sorta, ed una anteriore in cui la parte laterale della vôlta rimane costituita da due ispessimenti della *lamina chorioidea*. Perciò, volendo conservare i nomi fin qui in uso, si potranno distinguere col nome di *obex* e di *ponticulus* lo zaffo e i suoi prolungamenti, e si potrà serbare quello di *taenia* o *ligula* agli ispessimenti ora detti: devesi però tener presente, che al contrario di quello che si ammette generalmente si tratta di produzioni, delle quali le prime sono essenzialmente differenti dalle seconde.

Ritornando alla normale coesistenza dei due canali nel bulbo, interessa stabilire quale sia il loro significato. Siccome abbiam detto che delle due cavità quella ventrale è una diretta continuazione del c. centrale del midollo spinale, dobbiamo ritenere che la medesima ci rappresenti, come in tutto il rima-

nente del midollo, la porzione non obliterata della primitiva cavità midollare. Ma in qual modo si deve interpetrare l'altra cavità, quella più dorsale? È questa dovuta ad un semplice cul di sacco della tela coroidea, formatosi per un'azione meccanica qualunque, oppure ha un significato affatto diverso?

La prima ipotesi appare la più accettabile, quando noi limitiamo il nostro esame ad un soggetto adulto, ma se invece seguiamo grado a grado le trasformazioni che durante lo sviluppo subisce il c. centrale, ci facciamo tosto convinti che alla detta disposizione è da attribuirsi un altro significato. Facciamo l'esame di una serie di tagli trasversali, anzichè in direzione craniale, in senso caudale. Vedremo allora che, fatta eccezione per un primo periodo embrionale, il quarto ventricolo, al suo estremo caudale via via restringendosi, si sdoppia sempre a livello del *calamus* in due cavità secondarie, di cui distalmente la dorsale si oblitera, la ventrale si continua nel c. centrale propriamente detto. Ciò ho osservato in embrioni di *Torpedo*, di *Lacerta*, di pollo, di cavia, ecc. Ora, se nell'adulto (*Torpedo*, *Pristiurus*, *Lacerta*, *Varanus*, pollo, ecc.), precisamente nella stessa regione si riscontrano costantemente due cavità con caratteri simili a quelle dell'embrione, non abbiamo già un dato importantissimo per ammettere che si tratti sempre di uno sdoppiamento del canale centrale, primitivamente unico?

Il perchè fino allo stadio definitivo si conservi questa particolare disposizione si induce dalle trasformazioni, cui va incontro il c. centrale primitivo. In tutta la lunghezza del midollo spinale, secondo gli autori, il canale medesimo in un momento dello sviluppo è suddiviso in due canali secondarii, fra loro indipendenti, di cui in una fase successiva il più dorsale si oblitera, il più ventrale rimane e si converte nel c. centrale definitivo; a livello del midollo allungato invece tutta quanta la cavità centrale primitiva rimane, e dilatandosi diviene il quarto ventricolo.

Ma che cosa si verifica nella zona di passaggio tra midollo spinale e bulbo? Dal c. centrale del midollo, tanto ridotto nelle sue proporzioni, si passa tutto in una volta nell'ampia cavità del bulbo, come si ammette generalmente, o non piut-

tosto c'è un tratto intermedio, che ha dei caratteri speciali e segna il passaggio tra l'uno e l'altra? È precisamente quest'ultimo il fatto costante, che si osserva ed è caratterizzato dalla presenza dei due canali più volte ricordati.

Nella regione del bulbo, di cui ci occupiamo, son dunque in un breve tratto ricapitolate le diverse fasi, che subisce il primitivo c. centrale per rendersi definitivo. Da una cavità unica (seno romboidale) si passa in direzione caudale ad una parte intermedia, in cui la cavità stessa si è scomposta in una dorsale e in una ventrale, finchè più indietro non si trova che quest'ultima (c. centrale propriamente detto). In conclusione la suddivisione costante, ma transitoria del c. centrale primitivo si rende permanente ad un certo livello del bulbo e precisamente nella regione, che siam venuti descrivendo. Cosicchè la ipotesi emessa fin da quando furon fatte le prime osservazioni e più sopra riferita, è pienamente confermata dalle ulteriori ricerche.

Quanto allo zaffo gelatinoso, che separa l'uno dall'altro i due canali, ne ho potuto notare il primo abbozzo in un embrione di cavia di mm. 21. La sua differenziazione, rilevabile dapprima solo per il colore più intenso che col carminio assumono le cellule che lo compongono, si va facendo in seguito sempre maggiore, finchè nell'adulto l'abbozzo medesimo si individualizza in un forte ammasso di tessuto gelatinoso.

Conclusioni.

1. Nel bulbo rachidiano dei pesci, degli anfibi, dei rettili, degli uccelli e dei mammiferi normalmente coesistono per un certo tratto due cavità, una dorsale e l'altra ventrale. Distalmente la prima termina a fondo cieco, la seconda si continua nel canal centrale propriamente detto; cranialmente ambedue confluiscono nel quarto ventricolo.

2. Le due cavità confluiscono all'innanzi dell'angolo posteriore della fossa romboidale *(calamus scriptorius)*.

3. Le due cavità rappresentano una suddivisione del canal centrale primitivamente unico.

4. Le due cavità sono fra loro separate da uno zaffo di sostanza gelatinosa, notevolmente sviluppato nei mammiferi, il quale riempie tutto l'angolo posteriore della fossa romboidale e si scompone in avanti in due bandellette, che costeggiano internamente il primo tratto dei corpi restiformi.

5. Nella parte più distale del quarto ventricolo non esistono ispessimenti della vôlta ventricolare. L' *obex* e il *ponticulus* erroneamente vengon considerati come tali, mentre non sono che parte integrante dello zaffo gelatinoso sopra detto e dei suoi prolungamenti. Soltanto un poco più all' innanzi s' incontrano due ispessimenti laterali del tetto ventricolare (*taenia* o *ligula*).

6. Una sezione sagittale del bulbo, condotta in vicinanza della linea di mezzo, dimostra che la *lamina chorioidea* dalla faccia inferiore del cervelletto si porta al di dietro della parete dorsale del bulbo, senza continuarsi direttamente con l'ependima del canal centrale.

Firenze, 25 ottobre 1895.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

Tav. II.

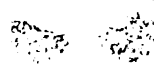
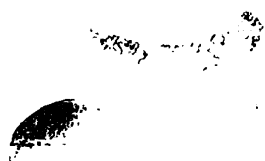
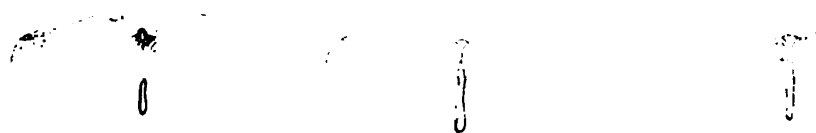
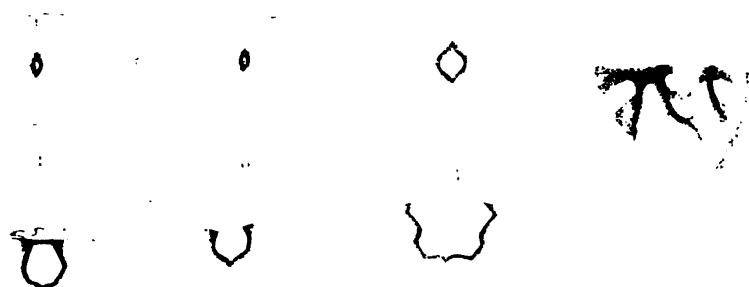
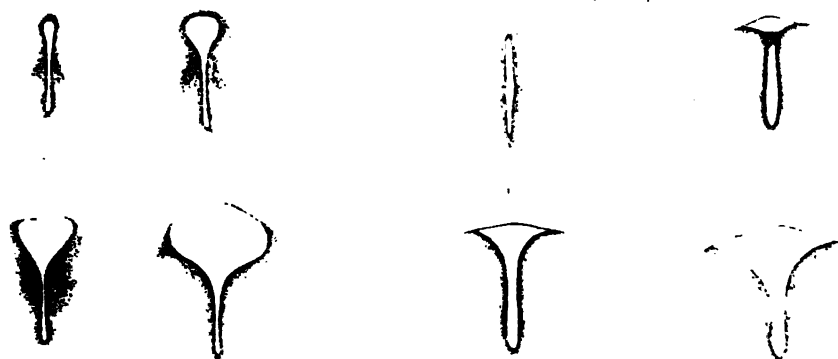
Le figure sono state disegnate con l'embriografo di His, e rappresentano, eccettuata la IV, sezioni trasverse della parte più alta della porzione cervicale del midollo spinale e della parte caudale del bulbo. Nelle diverse figure il numero progressivo 1, 2, ecc. corrisponde a un livello progressivamente più alto o craniale dell'organo.

Fig. I. — Embrione di *Torpedo ocellata* di mm. 22 di lunghezza. Ingr. circa 26 diam. — 1 midollo cervicale — 2, 3, 4 midollo allungato.

Fig. II. — Embrione di *Torpedo ocellata* di mm. 26 di lunghezza. Ingr. circa 24 diam. — 1 midollo cervicale, *a* canal centrale — 2 porzione caudale del bulbo; *a*, *b* le due cavità dorsale e ventrale, in cui è suddiviso il canal centrale — 3 $a+b$ quarto ventricolo, *a* porzione ristretta o ventrale, *b* porzione slargata o dorsale — 4 idem.

Fig. III. — *Pristiurus melanostomus*, adulto. Ingr. circa 8 diam. — 1 midollo cervicale, *a* canal centrale — 2 *a*, *b* le due cavità, dorsale e ventrale del bulbo — 3, 4 *a*, *b* le stesse cavità ingrandite e ravvicinate — 5, 6 $a+b$ il quarto ventricolo, risultante dalla riunione delle due cavità *a*, *b*.

Fig. IV. — *Coniglio*, adulto — Sezione longitudinale del bulbo. Ingr. circa 3 diam. — IV, ventricolo, *a* canal centrale propriamente detto (cavità ventrale), *c* tela coroidea, che in basso si porta al di dietro della parete dorsale del bulbo e limita una piccola cavità *b* (cavità dorsale), *d* aracnoide.

Fig. V. — *Uomo*, neonato di giorni 2. Ingr. circa 4 diam. — 1 porzione distale del bulbo, *a* canal centrale propriamente detto, *b* cavità dorsale, *x* zaffo gelatinoso — 2 le cavità *a*, *b* vicine a confluire, *x* zaffo gelatinoso — 3 le cavità *a*, *b* fra loro comunicanti, *x* metà, in cui è rimasto diviso lo zaffo gelatinoso — 4 $a+b$ quarto ventricolo, *k* tela coroidea, *x* residuo dello zaffo gelatinoso — 5 $a+b$ quarto ventricolo, *c* cervelletto, *y* ispessimenti laterali della tela coroidea.

Dal Laboratorio di Patologia generale del R. Istituto Superiore
di Studi pratici e di perfezionamento in Firenze, diretto dal prof. A. Lustig.

ANOMALIE DEL PROCESSO CARIOCINETICO

PROVOCATE SPERIMENTALMENTE

RICERCHE

DEL

DOTT. GALILEO PIERALLINI

Nei tessuti normali la divisione cellulare indiretta presenta quasi sempre, nelle sue diverse fasi, una sorprendente regolarità. Sezionando e colorando, con metodo adeguato, certi tessuti epiteliali, e poi osservandoli al microscopio, vi si possono vedere frequenti cellule in cariocinesi, riproducenti i varii momenti della divisione con molta chiarezza e regolarità: la colorabilità, le dimensioni delle anse, il loro numero, la loro disposizione nelle diverse fasi sono si può dire identiche nello stesso tessuto epiteliare.

Subito dopo i primi lavori sulla cariocinesi normale (circa il 1876-77), molti autori incominciarono a descrivere, forme di moltiplicazione in cui questa regolarità del processo cariocinetico presentavasi più o meno alterata. Le anomalie furono in principio negate e classificate spesso come artifizii di preparazione; ma sommandosi poi i reperti e gli autori che le affermavano, presto apparve chiaro l'interesse grande che esse presentavano. Si poteva pensare infatti che queste deviazioni dalla regola, dovessero, studiate nella loro intima essenza, portare luce sul meccanismo di produzione e nello svolgimento della regola stessa, cioè della cariocinesi normale: così la teoria mec-

canica della cariocinesi si svolse a poco a poco, col progredire di queste indagini, e si affermò, traendo sempre nuovi appoggi dai nuovi lavori che apparvero sulle cariocinesi anormali.

Ricordo qui in poche parole questa teoria poichè dovrò poi invocarla spesso nell'interpretazione delle figure, tratte dai miei preparati. Essa fondasi tutta nel fatto che centrosoma ed elementi cromatici sono fra loro intimamente legati in modo stabile e fisso dalle fibrille acromatiche. Questo rapporto costante è mantenuto poi anche dopo la divisione del centrosoma poichè, essendo ogni cromosomo del primitivo spirema congiunto al centrosoma per due filamenti acromatici, nella divisione poi del centrosoma in due corpuscoli polari e del cromosomo in due anse, si ha ogni ansa congiunta per un filamento ad uno dei corpuscoli polari. Il movimento di questi corpuscoli polari ha per ultimo resultato la costituzione del fuso acromatico, e, poichè legate al fuso stanno le anse, queste vengono ad orientarsi al centro del fuso medesimo, per costituire la placca equatoriale. I filamenti acromatici, spiegano poi nelle anse un'azione traente, agendo, secondo l'espressione del Rabl, per contrazione come se fossero fibrille muscolari, ed è così che dalla placca si formano i due aster figli.

È questa la teoria meccanica della cariocinesi che differisce dai modi di vedere del Van Beneden e dell'Henneguy (1), i quali ammettono come un'azione a distanza, dei corpuscoli polari sulle anse, per l'orientamento di queste.

Le cariocinesi anomale furono, ho detto, quelle che diedero gli argomenti principali in appoggio di questa teoria: fra questi argomenti ricordo il disorientamento delle anse che si osserva in seguito alla distruzione degli elementi acromatici del nucleo, la disuguaglianza dei corpuscoli polari e il numero differente delle fibrille traenti nei semifusi delle cariocinesi asimmetriche, ecc.: fatti su cui dovrò ritornare spesso in seguito.

Questo in rapporto con la morfologia cellulare. Ma, poichè da queste cellule moltiplicatesi con un processo atipico, derivano talvolta cellule differenti dalla norma, ed in special modo da quelle del tessuto in cui si sono prodotte, poichè queste forme di divisione si riscontrano in special modo, anzi secondo qualcuno

unicamente, nei tessuti patologici (tumori), la loro interpetrazione ha portato alla discussione di alte questioni di biologia cellulare, alle quali accennerò in seguito.

Intanto entro senz'altro a ricordare le principali modificazioni che si possono osservare nel processo cariocinetico.

*
* *

Le cariocinesi anormali si possono repartire in due classi. Talvolta i nuclei conservano nel moltiplicarsi il carattere di dividersi in due, consecutivamente alla divisione in due del centrosoma; oppure in un nucleo in mitosi resultano dalla divisione del centrosoma più di due corpuscoli polari, e consecutivamente altrettanti gruppi di anse cromatiche verso di quelli si orientano.

Nel primo caso la modificazione al processo consiste in generale nella non perfetta eguaglianza della divisione e parlasi allora di cariocinesi *asimmetrica*, nel secondo il nome stesso descrive l'alterazione: parlasi di cariocinesi *multipolare*.

C'è poi un *terzo gruppo* d'anomalie costituito da forme speciali prodotte da metamorfosi regressive del corpo cellulare: in questo gruppo entrano tutte le modificazioni degenerative della cariocinesi, modificazioni più o meno gravi, secondo l'intensità del processo regressivo che nella cellula si è verificato prima o durante il processo della divisione.

Molti autori si occuparono in questi ultimi tempi di cariocinesi asimmetriche Hansemann (2), Stroebe (3), Kruse (4), Klebs (5), Ribbert (6), Hauser (7), Karg (8), Vitalis Müller (9), Noeggerath (10), Hanau (11), Lustig e Galeotti (13). I primi due le attribuiscono solo ai cancri; tutti gli altri concordano nell'ammettere queste asimmetrie non solo nei cancri, ma anche nei tumori benigni e nei tessuti normali in rigenerazione.

Sulla questione fondamentale dei tessuti in cui le cariocinesi asimmetriche si riscontrano, e sulle condizioni sotto l'influenza delle quali esse si formano, si discusse molto e ancora si discute. Il fatto parrebbe strano se non si considerasse come il classificare per asimmetrica una cariocinesi sia cosa tutt'altro che facile e sicura.

Vitalis Müller fin da principio poneva l'assioma, che non si può giudicare sicuramente una cariocinesi asimmetrica se non è ben visibile il fuso acromatico, e questo per due ragioni: primo, perchè esistono forme di passaggio dall' aster al diaster, le quali possono trarre in inganno, giacchè in queste forme si avvera talvolta una precoce emigrazione di poche anse dalla stella madre verso uno dei poli, simulando così con i due ammassi cromatici inuguali, separati, una cariocinesi asimmetrica; secondo, perchè la lama del microtomo tagliando un diaster in obliquo, può benissimo portar via una parte di un aster, lasciando intatto l' altro. — Per evitare queste due cause d' errore, secondo Müller solo la visione netta del fuso acromatico aveva dunque un valore preciso; ma non sempre le fibrille acromatiche sono chiaramente visibili, e sempre occorre una lunga pratica di questi studi perchè l' occhio le possa nettamente discernere. Nondimeno dalle due obiezioni serie di Vitalis Müller bene si difendono Stroebe e Galeotti (quest'ultimo nel suo studio sulle anomalie del processo cariocinetico provocate nei tessuti mediante stimoli chimici) con una serie di argomenti che permettono di discernere quello che è artificio di prerarazione dalla vera anomalia. — In verità le fibrille acromatiche riunienti i due aster, disposte a cono tronco sono indizio sicuro di cariocinesi asimmetrica: anche il vedere la cellula, che si vuol dire in divisione asimmetrica, di forma conica, con i due aster situati alla stessa distanza focale dalla lente del microscopio, il non trovare vicino ad essa, o nel suo protoplasma, frammenti di anse abrasi dalla lama, sono pure indizi che hanno un grande valore e che possono, messi insieme, farci affermare con sicurezza il fenomeno.

Nondimeno questa difficoltà di poter accertare l' asimmetria in una cariocinesi, è bastata ad Hansemann (Krüse è con lui) per negare la presenza di cariocinesi asimmetriche nei tumori benigni, e nei tessuti in rigenerazione, fatto riscontrato dagli altri autori, e fondar su ciò la sua teoria istogenetica del cancro. Questa teoria di Hansemann sulla ragion d' essere e sul significato delle cariocinesi asimmetriche, va congiunta all' ipotesi tratta da Weismann dall' osservazione dell' espulsione del globulo polare nell' uovo.

Weismann, (12) osservando nella maturazione dell'uovo l'espulsione del globulo polare, aveva già detto: la cellula uovo derivante da un tessuto epiteliale, contiene dentro di sè i caratteri delle cellule del tessuto da cui deriva, cioè di cellula epiteliale. Col dividersi ed espellere una parte della sua cromatina (globulo polare) la cellula perde alcuni di questi caratteri e diviene "indipendente" capace cioè di vita a sè.

Fra questo fatto osservato da Weismann e le cariocinesi asimmetriche volle Hansemann stabilire un paragone, e come dal fatto primo Weismann aveva tratto fuori l'ipotesi dell'indipendenza acquisita dalla cellula uovo, egli dal fenomeno della divisione asimmetrica ne trasse fuori l'ipotesi dell' *anaplasia* cellulare, che egli adatta alla spiegazione dell'istogenesi dei tumori.

Hansemann chiama *anaplasia* la perdita da parte di una cellula di una somma di caratteri, acquisiti durante lo sviluppo ontogenetico, o, meglio che acquisiti, a lei distribuiti, nella divisione della somma d'inerzie, contenute non differenziate nella cellula embrionale. Sono questi caratteri che, ugualmente ripartiti in un sistema di cellule, formano quello che dicesi un tessuto con tutte le sue proprietà e funzioni. Ciascun individuo, di quel tutto che chiamasi tessuto, ha dunque le stesse proprietà, ed è a questo modo che fa parte della vita del tessuto medesimo. Con la perdita di una parte di queste proprietà, (anaplasia) la cellula, secondo Hansemann, viene ad essere una cosa nuova, un individuo speciale, inutile da quel momento al tessuto da cui deriva, perchè non più in accordo con gli altri elementi che lo costituiscono, ma capace di vita propria tale e quale come l'uovo. Il più classico esempio *d'indipendenza* cellulare ci vien fornito infatti dalla cellula uovo, e le cellule embrionali che da quello derivano conserverebbero ancora questo carattere, sempre però perdendone un tanto, nelle successive suddivisioni dello sviluppo, fino a perderlo del tutto a sviluppo compiuto. Le cellule anaplastiche dunque, con la perdita di certe loro proprietà acquisite, ritornerebbero indietro, ritornerebbero verso uno stato embrionale e verso l'uovo: accadrebbe dunque come conclude Hansemann, che nella serie dei loro stadi di svi-

luppo le cellule embrionali cominciano là dove le anaplastiche finiscono.

Questa anaplasia cellulare Hansemann vorrebbe appunto vederla verificata dalla cariocinesi asimmetrica e siccome egli, come dissi prima, aveva stabilito, essere le divisioni asimmetriche proprie del carcinoma, così ne trasse la conclusione che a queste cellule speciali il carcinoma fosse dovuto; ed a queste cellule indipendenti attribuì i fatti di metastasi che egli invoca quasi a confermare il fatto dell' indipendenza loro.

Ma questa teoria geniale ebbe subito un gran numero di oppositori e Stroebe è a capo di questi. Primieramente Stroebe combatte il paragone fra l' espulsione del globulo polare nell'uovo, e la cariocinesi asimmetrica. L'espulsione del globulo polare nell'uovo, egli dice, non può paragonarsi ad una cariocinesi asimmetrica, perchè resta nell' uovo un numero di cromosomi uguale a quello che si trova nel globulo espulso, talchè fra i due fatti non c' è somiglianza, ma divergenza. E Hansemann stesso comprese subito la serietà dell' obiezione rinunciando in un suo lavoro seguente alla sua comparazione : però egli dice: se cade la mia comparazione non cade il fatto della analogia della derivazione dell' uovo maturo dalla cellula somatica, e della cellula carcinomatosa dal tessuto generatore per una differenziazione e un aumento di indipendenza.

Ma Stroebe obietta ancora: Hansemann parla di anaplasia come di un fenomeno universalmente conosciuto, mentre non si ha ancora nessuna chiara nozione nell' essenza di questo processo. E Hanau dice che il più debole punto della teoria di Hansemann è, che non è dimostrato che una mitosi asimmetrica, conduca a differenze qualitative nelle cellule figlie e finchè questo non è provato tutta la questione dell' anaplasia è indimostrata.

Sussiste poi il fatto, per riguardo all' istogenesi del carcinoma, che Karg, Ribbert, Müller, Stroebe, studiando un gran numero di tessuti, trovarono cariocinesi asimmetriche nei tumori benigni e nei tessuti in rigenerazione.

Riguardo al meccanismo di formazione di queste asimmetrie, bisogna invocare di nuovo la teoria di Rabl sulla connessione

delle anse cromatiche al centrosoma. Ciascun cromosomo si compone di due elementi uguali e paralleli, l'uno accollato all' altro, ed ognuno di questi elementi sta unito al centrosoma mercè una sua propria fibrilla acromatica, così che nella divisione del centrosoma in due corpuscoli polari toccherebbe ad ognuno dei due una fibrilla di ciascun cromosomo. Se ora il centrosoma non si divide in 2 masse perfettamente uguali (i 2 corpuscoli polari), ad una di queste masse, la più piccola, andranno solo le fibrille appartenenti ai microsomi che si sono divisi ed all'altro corpuscolo polare più voluminoso andranno e le fibrille di questi cromosomi divisi e quelle delle anse cromatiche rimaste unite, talchè, nella successiva retrazione di questi elementi acromatici, verso un polo si raccoglierà un numero di anse maggiore che verso l'altro, avendosi così due aster figli inuguali, cioè una cariocinesi asimmetrica.

Avendo parlato di questo speciale modo di moltiplicazione cellulare, si presenta naturalmente il quesito delle conseguenze morfologiche e fisiologiche, che nelle cellule figlie da essa derivate si possono osservare.

Nei tessuti normali la cromatina non subisce apprezzabili variazioni per quantità, e Flemming, Rabl ed altri, hanno constatato sempre la costanza nel numero delle anse delle cellule di uno stesso tessuto non patologico. Invece nei tessuti patologici Arnold (14) Cornil (15) Hansemann, Klebs hanno descritto tutti cellule speciali, i cui nuclei in riposo contenevano in modo evidente una quantità di cromatina maggiore o minore del normale. Klebs a queste cellule dètte il nome di *ipercromatiche* ed *ipocromatiche*.

A spiegare l'origine di queste cellule furono emesse varie teorie: Klebs invocò una specie di fagocitismo: avendo notato con una certa frequenza la presenza di leucociti e nel protoplasma cellulare e nel nucleo stesso (fatto confermato anche da altri autori — Stroebe, Ziegler (16)) credette che la sostanza cromatica contenuta in queste cellule bianche andasse ad aggiungersi alla cromatina della cellula, in modo da renderla ipercromatica. Per le ipocromatiche poi ammetteva la semplice influenza di cattive condizioni di nutrizione, come causa dell'im-

poverimento della sostanza cromatica. Lo Schottländer (17) più semplicemente, coll' influenza delle condizioni di nutrizione dei tessuti, spiega e l' ipercromatosi nel caso di buona e l' ipocromatosi nel caso di deficiente nutrizione. Però non si comprende come, se questa sola causa bastasse a produrre un tal fenomeno, queste cellule speciali non si dovessero trovare che in certi tessuti, dal momento che tutti i tessuti pur essendo normali, vanno per un numero infinito di circostanze, facilmente soggetti a variazioni nella loro nutrizione.

Flemming (18) non parla di aumento o diminuzione di cromatina nelle cellule in riposo, ma sibbene di un aumento nel numero delle anse di cellule in moltiplicazione, cellule che egli dice presentare una divisione eterotipica, poichè egli crede il fatto dovuto non ad una semplice divisione in due delle anse, come avviene di regola, ma a divisioni successive.

Hansemann infine fa derivare queste cellule dalle cariocinesi asimmetriche. Difatti il carattere principale di queste è l'avere i due aster figli composti di un numero diverso di anse, e siccome gli aster sono destinati a rappresentare la parte cromatica delle due cellule, prodotte dalla divisione, queste nel caso delle divisioni asimmetriche ne conterranno una quantità molto differente dal normale, tanto da meritare l' una il nome di cellula ipercromatica l'altra d' ipocromatica. Fisiologicamente poi queste due cellule mostreranno una vitalità molto differente. La cellula ipercromatica col suo nucleo spesso più grande del normale, ricco di sostanza cromatica, col corpo cellulare pure talvolta più grande, mostra tutti i segni di una cellula in rigoglioso sviluppo, invece la ipocromatica si presenta sempre con tutti i caratteri opposti ed appare destinata fino dal suo nascere ad una vita meschina e breve. Questo spiegherebbe l'obiezione mossa da Stroebe contro la derivazione di queste cellule dalle cariocinesi asimmetriche, che cioè in troppo scarso numero si riscontrano nei tessuti patologici le cellule ipocromatiche in confronto delle ipercromatiche e delle cariocinesi asimmetriche, per potere alle une ed alle altre attribuire un' origine comune da queste.

L' altra forma di cariocinesi anormale proveniente dalla divisione del centrosoma in più di 2 corpuscoli polari, vale a dire,

la cariocinesi multipolare, è come si disse prima, propria degli stessi tessuti; dove si possono riscontrare le altre forme anomale sopra citate.

Queste forme multipolari si verificano generalmente nelle cellule ipercromatiche, le quali come ho detto or ora traggono origine dalle cariocinesi asimmetriche. Queste forme irregolari di mitosi furono, la prima volta, descritte da Eberth (19) in una cellula della membrana di Deschmet con un nucleo in mimitosi a 4 poli. Poi Arnold, Hegelmann (20) Strassburger (21) Martin (22) descrissero ampiamente figure cariocinetiche tri- tetra- esa- polari, e dopo di questi Cornil, Tizzoni e Pozzi (23), Hertwig (24) Klebs, Schottländer, Henneguy, Hansemann, Stroebe. Varii di questi autori descrivono queste forme nei tumori solamente, Arnold li descrive nei corpuscoli bianchi e nel midollo delle ossa. Waldstein (25) sempre nel midollo delle ossa di individui morti di anemia perniciosa, Schottländer nella cornea di rana artificialmente infiammata, Henneguy nelle cellule embrionali della trota. Si vede dunque che anche le cariocinesi multipolari non si trovano solamente nei cancri, ma anche in tutti quei tessuti dove più numerose del normale si contano le cellule in mitosi, dove si vedono le altre forme anomale, dove si hanno insomma tutti i segni di uno stimolo esagerato alla moltiplicazione cellulare.

Il Flemming non credette a queste forme multipolari ma ammise la contemporanea divisione di due nuclei in una stessa cellula. Poi, dopo i molti lavori degli autori sopra citati, e in special modo dopo l'estesissima monografia di Schottländer, dove egli riporta un gran numero di esemplari di queste forme multipolari (specialmente tripolari), questa anomalia di divisione fu accertata. Si ammette ora dai più, che esse derivino dalle cellule ipercromatiche, poichè, comunque considerate, presentano sempre un'evidentissima, stragrande abbondanza di sostanza cromatica e che, momento etiologico diretto del loro formarsi, sia la divisione multipla del centrosoma.—Ai diversi corpuscoli polari si repartono allora le fibrille acromatiche e nelle trazioni si vengono a formare varii gruppi di anse, che stanno fra loro con diversi rapporti di posizione.

*
* *

Abbiamo così passato rapidamente in rassegna le varie modificazioni del processo cariocinetico normale, e questo ho fatto, perchè tutte queste varie forme ho riscontrate nei preparati del mio lavoro. — Sperimentalmente le modificazioni della divisione indiretta sono state tentate fin ora solo da O. ed R. Hertwig sulle uova degli echinodermi, agendo con sostanze chimiche e mezzi fisici e poi dal Galeotti (28) negli epitelii della salamandra con varie sostanze chimiche.

Metodo di ricerca.

Per esperimentare scelsi le salamandre perchè dotate di una resistenza piuttosto considerevole, e perchè mostrano cellule epiteliali grandi, in cui le cariocinesi sono bene evidenti.

Per studiare il tessuto di rigenerazione dell' epitelio epidermoidale di questi animali, facevo un piccolo taglio in direzione dell'asse della coda, dal lato dorsale, lungo 4 o 5 millimetri, profondo 3 o 4; perdita di sostanza che in condizioni normali è in 10 o 15 giorni quasi del tutto riparata.

Tenevo le salamandre di confronto, normali, in una vasca d'acqua, piuttosto ampia, curando che si trovassero in buone condizioni di salute. Esponevo le salamandre d' esperimento come descriverò partitamente poi, per un dato numero di giorni all' elettricità o al calore, tagliavo quindi il pezzo di coda dove era stata praticata la ferita, comprendendo nel pezzo un po' d'epitelio intatto — poi fissavo il pezzo nel liquido di Flemming. Dopo 24 ore rinnuovavo il liquido, e dopo tre giorni passavo il pezzo per i diversi alcool fino all' alcool assoluto, che cambiavo per due giorni di seguito. Includevo poi il pezzo in paraffina. Attaccavo le sezioni nel vetrino coprioggetti con glicerina albuminata e le colorivo col secondo metodo di Flemming (Triplice colorazione: Safranina, Violetto di Genziana e *Orange G*).

Esperienze col calore.

Era mio intendimento fare una serie ordinata e numerosa di esperienze per studiare gli effetti di questo agente fisico, sia riguardo alla durata che all'intensità dell'azione. Disgraziatamente ciò non mi è stato possibile e solamente quattro animali, fra i molti adoperati, mi hanno potuto servire.

Usai per tenere le salamandre a temperatura costante uno dei comuni termostati da batteriologia. — Incominciavo con una temperatura di 23° o 24° e poi salivo gradatamente fino a 27°, 30°, 33°, 38°, (limite estremo). Tutte le precauzioni possibili erano state prese, e difatti in una prima serie di esperimenti su 20 o 30 animali, quattro sopportarono le alte temperature, due a 33° per otto giorni e due a 38° (1) per otto giorni. — Però in una seconda serie, in circa 80 animali, nemmeno uno visse più di un giorno. Fatto l'esame bacterioscopico del sangue degli animali morti, costantemente trovai abbondantissimo un bacillo che aveva tutti i caratteri dell'Hydrophilus fuscus, già descritto come patogeno per le rane. — Si noti che esso non era certamente contenuto nell'acqua, poichè usavo acqua sterilizzata, ma era certamente ospite di queste salamandre, innocuo a bassa temperatura, virulentissimo alle temperature superiori ai 27°-30°.

È certo che malgrado cercassi di abituare gli animali alzando grado a grado la temperatura, essi dovevano soffrirne e anche i quattro che resistettero mostravansi in condizioni piuttosto cattive.

Malgrado tutto ciò i quattro pezzi ottenuti mi sembrano sufficienti per i resultati che andrò ora esponendo:

I pezzi inclusi e sezionati comprendevano e la parte di epidermide rigeneratasi sulla ferita, e tratti di epidermide non

(1) Si noti che queste temperature rappresentano condizioni assolutamente patologiche per le salamandre, e quali certamente per esse non si verificano mai in natura. La diversità della temperatura doveva farsi tanto più sentire in questi animali, poichè le esperienze furono praticate nell' inverno.

tocca dal taglio, circostanti a questo, e influenzati pure essi dal calore. — Anche con una osservazione grossolana spiccava subito il fatto che alcuni epiteli si trovavano in eccellenti condizioni mentre altri apparivano come sofferenti, come in preda a processi degenerativi più o meno avanzati, e questo appunto proprio negli epiteli sorti a riparare la perdita di sostanza. — Mi sembra di potere così spiegare questo fatto:

È proposizione oramai dimostrata nella biologia cellulare e universalmente ammessa che « il resultato della azione di uno stimolo conveniente sopra una cellula, può essere differente a seconda delle condizioni interne della cellula stessa. » Così uno stesso stimolo agendo in cellule, anche in apparenza uguali, può dare effetti diametralmente opposti, vale a dire, aumentare in un caso tutte le attività della cellula, in un altro causare in lei certi processi degenerativi e condurla fino alla morte. — Nel mio caso un uguale stimolo, il calore, spiegava la sua azione e su un epitelio normale e su un epitelio in rigenerazione, giovanissimo, e nei due territorii ho veduto nascerne effetti differenti — l'epitelio normale, che si trovava nelle migliori condizioni fisiologiche, sottoposto ad alta temperatura ha reagito aumentando di attività; le altre cellule, sorte in riparazione della ferita, non hanno potuto convenientemente reagire e sono cadute in preda a processi degenerativi.

Le anomalie dunque da me riscontrate nei miei preparati si possono suddividere subito in due gruppi:

1° *Anomalie a carattere progressivo*:

2° *Anomalie a carattere regressivo.*

I. - Anomalie a carattere progressivo.

Anomalie della figura cariocinetica in generale.

A) *Cariocinesi asimmetriche.* - Venendo subito a parlare delle anomalie a carattere progressivo, va ricordato come le forme asimmetriche e le forme multipolari sono da tutti gli autori riconosciute come indizio precipuo dell'aumentata attività riproduttiva del tessuto in cui si riscontrano. Nella parte bi-

bliografica dissi come questo principio, sia universalmente riconosciuto, essendosi costantemente riscontrate queste forme là dove le figure di divisione erano in aumento.

Anche nei miei preparati il fatto è confermato. Per accertarmene ho fatto una numerazione grossolana delle figure mitotiche degli epiteli normali, e poi ho messo a confronto i resultati con calcoli approssimativi eseguiti nei pezzi d'esperimento. Da questi ho potuto concludere che mentre si aveva nel primo caso circa il 7-8 per mille di cellule in cariocinesi, nei pezzi sottoposti al calore questo numero saliva al 10, al 12 e fino al 15 per mille. — Calcoli esattissimi non ne feci, perchè oltre alla fatica enorme che mi recava il conteggio di tutte le cellule in centinaia di sezioni, era così evidente l'aumento delle cariocinesi, che anche approssimativamente potevasi accertare il fatto. In certe sezioni ho potuto vedere fino a 2 o 3 cellule in moltiplicazione, l'una accanto all'altra e in un campo di microscopio [obb. $^1/_{12}$ ocul. III] ne ho vedute fino a 6 e 7.

Del resto non è questo un fatto nuovo: il Penzo (27) esperimentando su conigli giovanissimi ne vide crescere i tessuti più presto e più rigogliosamente dell'ordinario sotto l'influenza del calore; vide ferite e fratture beneficamente influenzate da temperature che superavano un po' quella del corpo, e, facendo il conteggio delle cariocinesi in questi tessuti, le trovò di molto aumentate in numero. Egli però non accenna alle figure mitotiche anormali nè alle degenerazioni.

Volendo descrivere ora appunto le anomalie della cariocinesi; comincerò dalle divisioni asimmetriche poichè son quelle da cui possono derivarne altre pure importantissime. Le figure asimmetriche sono frequenti nei miei preparati, e non credo di poterne aver male interpretata la natura, messo sull'avviso dalle obiezioni di Hansemann contro lo Stroebe, sul valore di certe figure asimmetriche, dagli argomenti di questo in difesa delle sue osservazioni, e dagli argomenti pure del Galeotti che ho riassunto in poche parole nella esposizione bibliografica appunto per questa ragione. Per le cellule in divisione asimmetrica da me osservate nelle cellule della salamandra mi mancavano o meglio erano inapprezzabili due criterii importantissimi, cioè: 1º il cen-

trosoma piccolo e raramente visibile non mi permetteva di apprezzarne la ineguale divisione; 2° le fibrille acromatiche scarse non mi mostravano evidentemente la repartizione inuguale ai due poli delle fibrille traenti.

Però se questi due caratteri sono necessarii per accertare l'asimmetria, al periodo della piastra equatoriale, al sopraggiungere dell'anafase possiamo farne a meno essendo l'asimmetria allora troppo evidente. E qui non mi rimane che rimandare il lettore alle figure disegnate.

La fig. 1 rappresenta un diaster asimmetrico; i 2 aster sono benissimo conformati, regolari e somiglianti fra loro in tutto, fuori che nel numero delle anse che li costituiscono.

Nella fig. 2 si vede pure un diaster asimmetrico; però in questo devesi notare un'altra particolarità di indole regressiva. Le due stelle figlie, e specialmente la più grossa, invece di avere le anse separate e nettamente visibili mostrano una fusione in blocco della cromatina. Il carattere degenerativo dell'alterazione è reso più evidente dal fatto che il citoplasma è in preda ad una evidentissima vacuolizzazione.

La fig. 3 rappresenta una fase più avanzata di una divisione asimmetrica; il diaster sta per diventare dispirema, le anse incominciano a frazionarsi e perdere la disposizione a stella, l'insieme della cromatina prende una figura reniforme, il carioplasma dei nuclei figli comincia a delimitarsi per l'apparire della nuova membrana nucleare.

La cellula della fig. 4 rappresenta un vero dispirema.

In tutte queste figure la disuguaglianza della quantità di cromatina nelle due parti della cellula è evidentissima.

La fig. 5 rappresenta il ritorno allo stato di riposo. In essa si vedono due cellule figlie, l'una accanto all'altra, ma completamente indipendenti. Se si paragonano, colpisce subito la differenza grande e del loro contenuto cromatico e del volume delle cellule in toto. Piuttosto strana e rimarcabile è la presenza in ambedue i nuclei di un nucleolo perfettamente uguale nell'uno e nell'altro. Come appaia questo elemento negli ultimi periodi dell'anfase, che valore abbia, di dove provenga nessuno ha ancora accertato.

Nella fig. 6 ho rappresentato 2 cellule figlie in perfetto stato di riposo, derivanti evidentemente da una divisione asimmetrica. Anche qui come nella figura precedente sono chiarissime le differenze sopra accennate.

In quest' ultimi due casi però si potrebbe obiettare che solo il caso abbia posto accanto due cellule di differente grandezza, niente affatto figlie di una stessa cellula, nè prodotto di una divisione asimmetrica. Per persuaderci del contrario basta l'osservazione generale di un epitelio normale di salamandra. Tutte le cellule che lo costituiscono presentano in esso una notevole uniformità nella grandezza e del citoplasma e del nucleo e se qualche volta per condizioni nutritizie o per ristrettezza di spazio si mostra qualche oscillazione, le oscillazioni sono sempre leggerissime non mai confrontabili con quelle dimostrate dalle cellule delle figure 5 e 6.

Le cellule di quelle figure presentano appunto tutti quei caratteri particolari descritti già minutamente dal Klebs e che permisero a questo autore di chiamarle iper- ed ipocromatiche. La denominazione è adatta poichè descrive benissimo la principale alterazione che in esse si riscontra.

Ho riportato di sopra per esteso la teoria di Hansemann e le opposizioni di Stroebe sopra la questione più importante intorno alle divisioni asimmetriche, se cioè, in seguito alla ineguale ripartizione delle anse, le cellule figlie acquistino davvero caratteri speciali da farle differenziare del tutto dal tessuto in cui si originano e da cui si rendono indipendenti. Io ho osservato nei miei preparati parecchie di queste cellule che sono un prodotto di cariocinesi asimmetriche e le ho confrontate attentamente con l'epitelio circostante. Non ho mai potuto trovare caratteri speciali che differenziassero grandemente queste cellule speciali dalle altre normali, nè ho potuto vedere in esse nulla di somigliante con le cellule embrionali. Molto semplicemente si potrebbe dire: « la cellula ipocromatica è una cellula dotata di poca vitalità, la ipercromatica invece è una cellula che possiede una totalità di energia nutritiva formativa e riproduttiva maggiore dell' ordinario. »

Difatti se queste cellule avessero i caratteri speciali che

l'Hansemann loro vuole attribuire, dovrebbero nei tessuti in cui si trovano, dar luogo a gruppi speciali di cellule che si distinguerebbero un po' dal tessuto circostante mentre non esiste nulla di simile. Sono perciò dell'opinione dello Stroebe che queste cariocinesi asimmetriche non abbiano in fondo una grande importanza per il tessuto in cui si compiono, e che si possano invece considerare come un risultato accidentale dello stimolo producente la moltiplicazione esagerata ed affrettata nella rigenerazione del tessuto.

È piuttosto degno di nota il fatto di veder normali o poco men che normali, le cellule ipocromatiche derivanti da un aster formato da un numero limitatissimo di anse: questo porterebbe a credere che non esistano caratteri speciali differenziati in ciascuna ansa separatamente, ma che ognuna di queste si equivalga nella trasmissione dei caratteri ereditarii, nel meccanismo della riproduzione. Preposto questo, era per me interessante studiare la ulteriore moltiplicazione di queste cellule ipocromatiche ed ipercromatiche, e difatti scorrendo i preparati ho potuto trovare diverse figure mitotiche appartenenti a queste cellule.

Nella fig. 7 vedesi appunto uno spirema in cui *l'ipercromatismo* è reso evidente dal fatto che esso si presenta straordinariamente denso e voluminoso. Nella fig. 8 vedesi una stella madre in cui è chiaro il fatto contrario, l'*ipocromatismo*; difatti essa non presenta che 7 anse disposte in una stella irregolare. Il citoplasma di questa cellula presenta inoltre alcuni vacuoli, segno di una incipiente *degenerazione.*

B) *Figure multipolari.* — Accennai già come le cellule ipercromatiche dessero facilmente origine a cariocinesi multipolari, le quali producendo più di 2 cellule distribuirebbero poi la loro sovrabbondante quantità di cromatina in 3-4 cellule figlie. Io, per quanto abbia studiato questi preparati, dove sono così abbondanti le cellule ipercromatiche, due sole mitosi pluripolari ho potuto accertare, e questo dimostrerebbe che non ogni cellula ipercromatica dà necessariamente luogo ad una cariocinesi multipolare.

Una di queste forme multipolari ho rappresentato nella fig. 9. È un triaster all'inizio dell'anafase, nel momento in cui

era compiuta l'emigrazione delle anse verso i corpuscoli polari. I tre semifusi sono bene visibili; i corpuscoli polari non si sono probabilmente colorati. Le stelle figlie sono perfettamente simili per la regolare distribuzione delle anse. È una figura somigliante a quelle disegnate dallo Schottländer.

Ricordo qui come alcuni ammettessero che nella metafase delle forme cariocinetiche multipolari non avvenisse la scissione longitudinale di ogni ansa in 2 anse sorelle, ma piuttosto la ripartizione in 3 gruppi delle anse intiere; e come altri invece credessero alla scissione di ogni ansa in tre anse sorelle di cui ognuna emigrerebbe verso i centrosomi. A me sembra facile comprendere, come si possa avere un' uguale repartizione delle anse nei tre aster figli, pure avvenendo la scissione delle anse primitive in due, pensando alla forma stereognostica che deve avere in questi casi la figura cariocinetica durante la metafase: come cioè essa sia formata da 3 piastre equatoriali combacianti, i cui fusi giacciono nello stesso piano. Dopo la divisione in 2 di ogni ansa, ad ognuno dei 3 poli emigrano le metà delle anse di due piastre equatoriali. Così si può giungere ad ottenere varî nuclei con uguale contenuto cromatico.

C) *Anomalie della sostanza cromatica.* — È noto come dalle masse amorfe di cromatina esistenti nel nucleo in riposo, quando questo si avvia al processo di divisione, si stacchino a poco a poco corpicciuoli rotondi e regolari (i microsomi) che poi si dispongono in serie per formare le anse. Questo avviene normalmente a poco a poco, e nei nuclei in imminente stato di moltiplicazione si possono vedere filamenti già costituiti e microsomi staccati e masse amorfe di cromatina non ancora suddivise. Nei tessuti da me sottoposti al calore, il passaggio da nucleo in riposo a spirema è assai rapido, molti stadî intermedî non si vedono e da nuclei con masse amorfe si passa subito a nuclei ripieni di catene di microsomi e da questi a veri spiremi.

Nella figura 10 esiste una leggerissima anomalia ma che ha pure una certa importanza. I filamenti cromatici sono in essa molto lunghi e sottili come se avessero subìto uno stiramento: questo ha fatto sì che i microsomi fossero un po' disco-

sti, come staccati l'uno dall'altro e il filamento cromatico prendesse l'aspetto seguente: una guaina leggermente colorata in violetto contenente nell'interno corpicciuoli staccati più intensamente colorati. Il fatto permette dunque bene di apprezzare la vera costituzione dell'ansa, come era stata già descritta da molti autori.

La fig. 11 rappresenta una stella madre regolare proprio nel momento più tipico della metafase: ma in essa le anse tutte sono come sdoppiate. Questo fatto non concorda con le figure schematiche, presentate da Flemming, da Platner, da Rabl e da Hermann, nelle quali figure si vede procedere di pari passo la scissione in due delle anse, con l'emigrazione della convessità di queste verso i poli. Nella mia figura la divisione è già compiuta, ma le anse figlie non si son separate, e le loro convessità guardano tutte verso il centro della stella madre e non esiste indizio d'emigrazione.

Queste anomalie leggiere che ho descritto si riscontrano frequentemente nei miei preparati accanto ad altre che ometto di descrivere; esse costituiscono tutte un indizio di leggieri disturbi nel processo funzionale della cariocinesi, portati dall'affrettamento nel lavorio di moltiplicazione.

II. — Anomalie dipendenti da fatti degenerativi.

I fatti degenerativi che si presentano nei preparati riguardano e le cellule in riposo e le cellule in cariocinesi. Essi sono frequenti, come già dissi, nel tessuto riformatosi sul luogo del taglio, e possono riferirsi a due forme principali, cioè:

Degenerazione pigmentaria.
Degenerazione vacuolare.

A) *Degenerazione pigmentaria.* — Le cellule in riposo in preda a questa alterazione regressiva sono un po' più grandi del normale, talchè gli interstizi cellulari sono quasi scomparsi, il citoplasma è omogeneo e pochissimo colorabile con l'arancio, il nucleo è poco distinto; appare come vuoto per la mancanza di

colorazione della sostanza acromatica, la cromatina è sempre colorabile con il colore basico, ma spesso frazionata in piccoli granuli, che riempiono tutto il nucleo. (Fig. 12).

Negli epitelii epidermoidali sani di salamandra la produzione di una discreta quantità di granuli di pigmento è un fatto fisiologico. Essi sono scarsi, di uniforme grandezza, perfettamente rotondi; in queste cellule in degenerazione invece il pigmento è abbondantissimo, la forma dei granuli è irregolare, e si aggruppano in masse di speciale configurazione. (Nella fig. 12 si vede una massa semilunare di granuli di pigmento addossata al nucleo).

Negli epitelii sani le cellule in cariocinesi non presentano mai granuli di pigmento, talchè il processo di moltiplicazione pare che col suo iniziarsi arresti questa speciale funzione della cellula. Invece in questo caso i granuli si trovano abbondantissimi anche nelle cellule in cariocinesi, le quali presentano contemporaneamente altre alterazioni, denotanti lo stato regressivo della cellula e l'alterazione profonda nel processo di moltiplicazione. Il fatto più saliente che si osserva nelle figure cariocinetiche prodottesi in tali cellule, è la povertà delle anse cromatiche. Negli stadii iniziali dello spirema infatti si può vedere che solo una parte delle masse cromatiche, le più grosse, giunge a trasformarsi in anse, le altre più piccole rimangono, come un detrito, in questi nuclei nello stadio iniziale della mitosi. (Fig. 13).

Col progredire del processo di divisione le piccole masse di cromatina vanno scomparendo e appaiono i granuli di pigmento: questi probabilmente derivano da trasformazioni di quelle masse che non sono state capaci di compiere la loro normale evoluzione per divenire microsomi. Flemming invero osservò lo stesso fatto nella rigenerazione delle glandule linfatiche.

Le anse di queste figure cariocinetiche oltre che essere in minor numero sono anche più sottili e più corte. La fig. 14 rappresenta un aster in queste condizioni: il citoplasma è ripieno di granuli di pigmento, non si vedono filamenti acromatici, le anse senza orientazione sono disperse per il territorio

nucleare, fra esse si vedono parecchi granuli di cromatina che non hanno certo la struttura di cromosomi, nè il loro valore funzionale: sono verosimilmente residui amorfi di cromatina.

Ho detto che nell'aster della fig. 14 non si vedono le fibrille acromatiche; in generale la parte acromatica di queste cariocinesi, o non si vede o se ne vede soltanto qualche sottile filamento colorato debolmamente dall'arancio. Non si può concludere però da questo, che la parte acromatica sia andata interamente distrutta, poichè si vedono spesso queste cariocinesi giungere alla fase di diaster e di dispirema, il che non sarebbe possibile con la distruzione completa dei filamenti acromatici.

Molte di queste cellule si arrestano allo stato di diaster per un' altra alterazione della parte cromatica che pure si riscontra frequèntemente nella degenerazione pigmentaria; voglio parlare della fusione delle anse degli aster in un ammasso compatto ed omogeneo uniformemente colorabile dal colore basico. Nella fig. 15, ai poli opposti della cellula, si vedono appunto due masse semilunari, che ricordano le forme degli aster figli nel momento in cui dovrebbero passare a formare il dispirema. In questo momento, nel caso normale, si avvicinano fra loro per formare un insieme, che diviene a poco a poco reniforme, mentre la sostanza cromatica si suddivide in tanti grossi microsomi. Qui accade precisamente l'opposto, le anse si avvicinano, la figura diviene reniforme, ma invece di aversi la frammentazione delle anse, se ne ha la fusione.

Si vede che in questi casi il processo di divisione è arrestato, poichè, mentre nel normale a questo punto sono già evidenti i limiti dei due nuclei figli, e si accenna già il piano di divisione della cellula, qui non si ha nulla di simile; la cellula non prosegue più la evoluzione cariocinetica, ma resta evidentemente in quello stadio per andare poi incontro a fatti degenerativi più gravi che la distruggeranno. In qualche caso però, malgrado la presenza dei granuli di pigmento, il processo di divisione si compie normalmente e si originano due cellule figlie mostranti esse pure questi granuli, come unico carattere degenerativo.

B) *Degenerazione vacuolare.* — Questa forma di degenera-

zione, si riscontra accanto all' altra sopra descritta, e mostra caratteri di molto maggior gravità riguardo alla funzionalità e alla vita cellulare. Il citoplasma delle cellule così degenerate è impiccolito e come traforato da tanti vacuoli rotondi; in qualche caso essi sono tanto numerosi da dare al protoplasma un aspetto spugnoso; gli spazi intercellulari appaiono più grandi, tanto che sono molto lunghi ed evidenti i ponti intercellulari che uniscono le varie cellule dell'epidermide. Il citoplasma che circonda i vacuoli, pare anche più denso mostrandosi più intensamente colorato. Questi vacuoli sono vere cavità, che forse durante la vita della cellula contenevano un liquido, ma che non contengono certamente masse di sostanza ialina, poichè altrimenti queste si sarebbero colorate con l'arancio.

La cromatina di queste cellule in riposo, mostrasi molto scarsa, riunita in 2 o 3 masse poco voluminose e presenta anomalie di colorabilità.

Nelle cellule meno degenerate, che presentano cioè pochi vacuoli, queste masse prendono un colore violetto bruno (violetto di genziana + arancio); negli stadii più gravi si coloriscono in rosso bruno (safranina + arancio) e poi finalmente in giallo arancio chiaro (arancio). Notasi in poche parole una inversione nelle reazioni microchimiche di questa sostanza cromatica, la quale perde la sua affinità per i colori basici e diviene a poco a poco acidofila.

Più importante è lo studio di questa degenerazione nelle cellule in cariocinesi. Però io credo utile fare subito una distinzione. Alcune cellule devono essere state colpite dalla degenerazione mentre in loro si era già in modo normale iniziato il lavorìo di divisione. Probabilmente difatti il dispendio di forze impiegate dall'elemento per compiere il lavorìo di preparazione alla mitosi, toglie alla cellula una parte di energia di resistenza contro lo stimolo (il calore), il quale per questo acquista un'influenza degenerativa. D' altra parte può essere che cellule già leggermente degenerate entrino in cariocinesi, ed allora la mitosi può cominciare secondo il tipo normale, e poi che facendosi sentire ancora l'influenza dello stimolo, influenza in questo caso patologica, il processo vada sempre più alterandosi. Fra

queste sono abbastanza frequenti soltanto le forme di spirema; le forme di aster sono più rare, rarissime quelle di diaster: ciò indicherebbe che in queste cellule esiste una incapacità a compiere tutta l' evoluzione cariocinetica.

In ambedue i casi le anomalie provengono in generale da lesione degli elementi acromatici.

Ricordo qui come alle varie fibrille del fuso sia stata attribuita una differente funzione nella cariocinesi e come la distruzione delle une o delle altre porti alterazioni differenti nel meccanismo della mitosi.

Fu osservato che il così detto fuso centrale, il quale collega i due centrosomi, rappresenta un asse di resistenza per le energie che agiscono al momento della divisione delle anse e che, spezzato questo, tali energie non possono più esplicarsi convenientemente; come pure fu detto che, costituendo le così dette fibrille traenti gli elementi attivi destinati a compiere la emigrazione delle anse verso i poli, distrutte queste in minore o in maggior parte, l'emigrazione o non avviene o avviene solo parzialmente.

Le mie osservazioni nei preparati presi ora in considerazione confermano questi fatti, ma essendone già stato parlato da molti, non mi sembra che sia necessario diffondermi su questo argomento. Riproduco solo qualcuna di queste figure anomale con degenerazione vacuolare.

La figura 16 mostra un aster, le cui anse sono in gran parte disordinate: solo 4 di esse restano nella posizione, che normalmente devono avere in tale fase, e appunto solo ad esse si vedono andare alcune fibrille acromatiche che le congiungono al corpuscolo polare.

La figura 17 mostra un diaster, di cui il fuso centrale è certamente spezzato poichè al suo posto vedonsi grandi vacuoli, in esso le stelle figlie non stanno più al loro posto, una in faccia all' altra.

In altri casi ho potuto vedere diaster, di cui soltanto una parte delle anse era giunta ai poli mentre altre anse, disordinate, restavano nel mezzo della figura cariocinetica: è naturale pensare che a queste anse fossero mancate le fibrille traenti.

Mentre le anse emigrate ai poli quivi compiono la loro trasformazione in spirema, le anse disperse si fondono generalmente in una massa unica, intensamente colorabile, rotondeggiante, come una delle tante inclusioni nucleari, così diversamente interpetrate dagli autori. La fig. 18 rappresenta uno di questi casi.

Gli elementi cromatici di queste figure cariocinetiche, mostrano poi talvolta alterazioni nella loro struttura intima: le anse sono infatti qualche volta più lunghe e sottili, talvolta invece frammentate e ridotte a bastoncelli, di cui alcuni sono rigonfiati alle estremità. Riguardo alla colorabilità posso dire che essi tendono a divenire acidofili.

La figura 19 mostra appunto uno spirema molto degenerato, il protoplasma è traforato da vacuoli; le anse sono scarse, contorte, colorate solo dall' arancio.

Esperienze con l' elettricità

Anche per le esperienze con l' elettricità mi servii delle salamandre.

Introducevo queste in un tubo da saggio forato in fondo, con la testa rivolta verso la bocca del tubo. La coda usciva dal foro fino alla sua radice, mentre la testa era dalla parte opposta immobilizzata con una reticella metallica. Mi era poi facile fissare anche meglio la coda con sostegni laterali, per impedire qualunque spostamento e potere applicare i poli della corrente in qualunque punto mi fosse piaciuto e in modo stabile.

Per avere la corrente mi servii di pile Daniell modificate (pila italiana), che hanno il grande vantaggio (indispensabile per me) di produrre una corrente costante per lungo tempo, senza polarizzarsi. Di queste pile (grande modello) ne usai al massimo 6 coppie, legate in serie. Per avere poi la corrente faradica, mi servii di una piccola slitta Du Bois-Reymond messa in azione da una pila sola.

Applicai le correnti ai tessuti mercè elettrodi di platino a superficie relativamente larga (1/4 di cm.). Per constatare l'intensità della corrente, adoperai un galvanometro di Edelmann interposto nel circuito.

Ogni due o tre giorni smontavo e ripulivo le pile per depolarizzarle e togliere di sopra agli zinchi il deposito formatosi. Di questo tempo approfittavo per lasciar riposare le salamandre, mettendole sotto un getto leggero d'acqua corrente.

In tal maniera eseguii un numero considerevole di esperienze. Per quanto però avessi cercato di variare e il numero dei giorni e l'intensità della corrente e la direzione della corrente medesima, ebbi a constatare una grande uniformità nelle alterazioni riscontrate negli epitelii in riposo e in quelli in rigenerazione, cosicchè il descrivere partitamente ogni esperienza, specializzando le particolarità inerenti ad ogni pezzo mi porterebbe ad un numero infinito di inutili ripetizioni.

Posso dire intanto subito che, paragonando tutte le osservazioni fatte da me in questo argomento, mi sono dovuto persuadere che le alterazioni del processo cariocinetico, prodotte mediante le differenti correnti elettriche, non hanno nulla di specifico, ma che non sono altro se non la conseguenza delle alterazioni che queste correnti portano negli epitelii in riposo, cioè sono tutte alterazioni di carattere degenerativo: quindi non avremo qui a parlare di cariocinesi asimmetriche o multipolari. Queste alterazioni naturalmente sono più o meno gravi, a seconda del grado di degenerazione, provocato negli epitelii in cui esse si riscontrano.

Per essere breve raggrupperò dunque le esperienze fatte secondo il genere di corrente adoperata e poi secondo il grado di degenerazione prodotto negli epitelii.

Corrente Galvanica

Salamandre X, T, G, B, M.

La salamandra *G* fu sottoposta per 3 giorni ad una corrente galvanica prodotta da 3 elementi, che passava per la coda in direzione trasversale. Gli elettrodi erano applicati direttamente sull' epidermide.

La salamandra *M* fu tenuta nelle stesse condizioni per 6 giorni.

La salamandra *B* fu sottoposta per 5 giorni ad una corrente data prima da 5, poi da 7 elementi.

Vedendo però che questa applicazione diretta degli elettrodi sul tessuto, portava facilmente in esso una necrosi rapida, pensai di fare arrivare la corrente all'animale attraverso l'acqua. Gli elettrodi pescavano in una piccola vaschetta contenente circa 10 gr. d'acqua, e nel mezzo a questa posi a permanenza la coda dell'animale. In questa specie di bagno elettrico tenni le salmandre *X* e *T* per una settimana circa.

Per la fissazione, inclusione e colorazione del pezzo usai il metodo già descritto a proposito delle esperienze col calore.

Le alterazioni d'indole degenerativa che io riscontrai nei varii casi erano minime, quando la corrente veniva trasmessa attraverso l'acqua, maggiori quando gli elettrodi erano a contatto della pelle, con un massimo d'intensità nei punti di contatto di questi. — A provocare fenomeni più o meno gravi influì naturalmente e il numero delle pile impiegate e il numero dei giorni impiegati per l'esperienza.

Non posso assolutamente riferir queste forme regressive ad alcuna delle forme classiche di degenerazione e di necrobiosi comunemente descritte, e d'altra parte non posso nemmeno entrare a descrivere minutamente le diverse apparenze dell'infinito numero di gradazioni che questi processi patologici presentano. Ho pensato dunque di compendiarli secondo tre tipi principali. Ho detto che ebbi le alterazioni minime allorchè feci passare la corrente attraverso l'acqua, come ad es. nella salmandra *X*. Tutti gli epitelii mostrano in questo caso un rimpicciolimento ed un addensamento del citoplasma, il quale si colora anche più intensamente del solito, sembrando come contratto. Il nucleo appare generalmente un po' rigonfio, con margini lisci e il suo contenuto chiaro non presenta l'ordinaria apparenza del reticolo acromatico, ma piuttosto sembra composto di granuli fini, irregolari, debolmente colorati ed ammucchiati diversamente. Le masse cromatiche in numero di 7 o 8 sono colorate intensamente, sono perfettamente rotonde e a margini netti (fig. 20).

Le figure cariocinetiche si presentano fra questi epitelii con una frequenza poco minore del normale: in esse si può ve-

dere che la principale alterazione risiede nella parte acromatica del nucleo; difatti se sono anormali, lo sono in generale per disordine della figura cariocinetica e per mancanza di orientazione. Però in qualche caso le anse pure esse si distruggono e si fondono in ammassi amorfi.

La fig. 21 rappresenta un aster disordinato, in cui non si vede più traccia di elementi acromatici. Da una parte vedesi un ammasso di sostanza cromatica, costituita probabilmente da anse disorientate, e fuse poi insieme.

La fig. 22 rappresenta una forma di falsa divisione asimmetrica: un aster è regolare e il suo semifuso e il suo corpuscolo polare sono bene visibili, mentre l' aster opposto è disordinato e composto solo di poche anse, poichè probabilmente le altre si sono distrutte.

Molte altre figure analoghe a queste si possono vedere nei miei preparati.

Un secondo grado di alterazione ebbi a riscontrare nella salamandra *C*, in cui, sebbene la corrente non fosse attenuata dall' attraversare l' acqua, pure le alterazioni erano meno gravi che nella *B* e nella *M*, poichè 3 soli elementi furono impiegati, e perchè per 3 giorni soltanto fu sottoposta allo stimolo elettrico.

In questi epitelii il citoplasma è straordinariamente addensato, ridotto ad un anello sottile intorno al nucleo, il quale appare come vuoto di carioplasma e contenente solo masse di cromatina irregolari e frastagliate. (Fig. 23).

Le cariocinesi sono piuttosto rare e sempre nei primissimi stadii della cariocinesi. Tra queste ne riproduco con la fig. 24 una, in cui si vede la formazione dei microsomi, i quali vanno ad ordinarsi in filamenti staccantisi dalle masse cromatiche mediante un processo di lobulazione. Le anse però che si formano sono in generale poche, sempre in numero minore che nel normale, e le figure cariocinetiche, anche ad un periodo più avanzato, sono sempre povere di anse cromatiche. Notisi che queste cariocinesi possono compiere tutti i periodi dello sviluppo e dare dispiremi e poi nuclei ipocromatici.

In questi preparati pure si riscontrano le forme anomali

provenienti dalla distruzione degli elementi acromatici del nucleo, forme che ormai non sto più a descrivere.

Un terzo stadio di degenerazione, il più grave, è rappresentato dalla salamandra *M*, che fu esposta per 6 giorni alla corrente data da 3 elementi.

In essa si hanno alterazioni gravi tanto, che gli epitelii sono vicinissimi ad una vera necrobiosi (disfacimento granulare). Nelle cellule in riposo il citoplasma è denso, molto colorabile e in qualche punto mostra l'inizio del disfacimento in granuli, il nucleo appare come contratto, omogeneo, uniformemente colorito in giallo; esso è per solito distaccato dal citoplasma e giace come in un largo spazio vuoto. La colorazione in giallo mostra come esso sia composto di una sostanza omogenea acidofila, in cui sono incluse 1-3 masse di cromatina, grosse, rotonde od ovali, resultate dal gonfiarsi o dal confluire insieme delle masse cromatiche normali. (Fig. 25).

L'alterazione è così forte che queste cellule non possono evidentemente entrare in cariocinesi e difatti tra questi epitelii non si riscontrano figure mitotiche. Vi si trova qualche rara figura molto alterata che ricorda lontanamente una cariocinesi; ma queste cellelule rappresentano probabilmente cariocinesi già iniziate quando lo stato dell'epitelio era ancora buono e poi arrestate e cadute in degenerazione.

Nella fig. 26 ho disegnato un diaster a cui credo di poter dare questa interpretazione.

Corrente Faradica.

Salamandra P, K, U.

Ho già detto che i mezzi per avere la corrente furono una pila Daniell ed una slitta Du Bois Reymond; per variare l'intensità della corrente avvicinavo o allontanavo il rocchetto.

Salamandra K. — Fu tenuta per 10 giorni con la coda sottoposta alla corrente faradica, essendo la slitta al N° 11 $^1/_2$ della scala. Alla fine della esperienza la ferita era completamente rimarginata.

Salamandra U. — Nelle stesse condizioni per 5 giorni. La

slitta era al N.° 12. La riparazione era appena cominciata, il fondo della ferita rosso.

Salamandra P. — Fu tenuta per 8 giorni sotto una corrente faradica con il rocchetto al N.° 14. La ferita era, quando cessai l'esperienza in parte riparata, rosso scura nel fondo.

Queste esperienze con la corrente faradica riuscirono negative rispetto alle anomalie del processo cariocinetico: non posso però non citarle, poichè sono molto interessanti da un altro punto di vista: posso dire cioè che negli epitelii sottoposti all'influenza delle correnti indotte alternanti, il processo di divisione indiretta viene del tutto abolito. Per quanto esaminassi una grande quantità di sezioni delle salamandre *P* e *U*, non ho potuto trovare che due sole cariocinesi ambedue appartenenti al periodo della profase. (Fig. 30 e 31).

Il fatto non avrebbe interesse se gli epitelii fossero, come nella salamandra *M*, tanto alterati da non essere capaci di moltiplicazione; ma invece, osservando gli epitelii in riposo, li vidi in buono stato, senza segno alcuno di degenerazione, anzi la epidermide di questi animali era composta di un gran numero di strati di cellule, le quali con un'abbondanza straordinaria si erano prodotte durante l'esperienza.

Questo sviluppo esagerato si produceva con un altro modo di moltiplicazione cellulare, cioè per divisione diretta. Specialmente nella salamandra *P* il fatto era chiaro: almeno uno su 6 nuclei si trovava in uno stadio più o meno avanzato di divisione diretta prossimo a frammentarsi in 2, 3 e perfino in 6 nuclei figli (Fig. 32); il citoplasma in qualche caso mostrava di seguire la divisione del nucleo, in qualche caso no.

Non incontrai mai, al di fuori dei territorî influenzati dalle correnti indotte, questa forma di moltiplicazione cellulare. Si vede bene che queste correnti non diminuiscono affatto l'attività moltiplicatrice delle cellule epidermoidali, ma sembra anzi che l'aumentino e che per esse soltanto si cambi il metodo di divisione.

Come si può interpretare questo fenomeno? Devesi credere che lo stimolo portato da queste correnti ecciti tanto la facoltà riproduttrice, da portare queste cellule alla divisione diretta rapida e semplice, piuttosto che alla cariocinesi, metodo di di-

visione più lungo e complesso, oppure che lo stato elettrico impedisca assolutamente il lavorìo delle cariocinesi, ed allora sorgerebbe la divisione diretta come funzione vicaria, per obbedire allo stimolo alla riproduzione?

Esiste intanto una alterazione anatomica in queste cellule tale da impedirne assolutamente la cariocinesi?

Dissi che trovai due cellule in cariocinesi, rappresentate nella tavola dalle figure 30 e 31. In queste forme le anse cromatiche si vedono strette le une contro le altre dal citoplasma e appare evidente la loro impossibilità a compire la intera evoluzione cariocinetica. Però da queste due sole figure non si può trarre un criterio per dire che l'abolizione del processo cariocinetico è data in questi epitelii da una alterazione anatomica contraria al compimento di questo processo, poichè quando per fatti degenerativi esisteva in un epitelio questa condizione erano frequenti le forme della profase e della metafase e mancavano quelle della anafase; in questo caso invece due sole forme di divisione indiretta si sono potute rintracciare.

Un'esperienza che passerò ora a descrivere salamandra *O*, in cui usai la corrente faradica, abolendo la controcorrente, e togliendo per conseguenza il continuo invertirsi degli stati elettro-tonici, mi fece pensare ad un'altra spiegazione. In questo secondo caso le cariocinesi non erano abolite, avvenivano anzi presso a poco con la frequenza normale e mancavano del tutto i fenomeni della divisione diretta. Pensai dunque che l'invertirsi degli stati elettro-tonici del protoplasma, fosse la causa dell'abolizione della cariocinesi: che cioè questo impedisse lo stabilirsi di quei centri di orientazione che coincidono con l'inizio delle cariocinesi e che ne sono indispensabili coefficienti. Ciò non vuol dire tuttavia che le correnti faradiche distruggano la tendenza di questi epitelii a moltiplicarsi, anzi forse la stimolano e la divisione diretta sorgerebbe come azione vicariante ad esaurire lo stimolo alla riproduzione.

Salamandra O.

Usai per questa esperienza la solita slitta Du Bois-Reymond, alla quale aggiunsi un interruttore che aboliva la controcor-

rente. Così la corrente interrotta che passava fra i due elettrodi nei tessuti della salamandra, andava sempre nella stessa direzione. In queste condizioni tenni la salamandra per 10 giorni. Alla fine dell'esperimento la ferita era completamente rimarginata.

Le alterazioni che osservai nell'epitelio di questa salamandra per riguardo alla cariocinesi, sono affatto differenti da tutte le altre esposte finora, e si riferiscono principalmente ai fenomeni meccanici del movimento delle anse. Nelle regioni dell'epidermide dove erano stati applicati gli elettrodi le cellule dell'epitelio avevano perduto del tutto il loro normale aspetto e la loro disposizione: si mostravano cioè col corpo cellulare molto allungato, coi nuclei ovali disposti tutti in una stessa direzione. Alterazioni degenerative non ne ebbi a riscontrare.

Tra le cariocinesi trovai alcune forme abbastanza caratteristiche. (Fig. 27-28-29).

La figura 27 mostra le anse di due stelle figlie che si sono allungate e distese verso la regione su cui si era applicato un elettrode.

La figura 28 rappresenta una stella madre. — In questa, essendo stata stirata una metà del fuso, le anse da quella parte non sono più collocate in un piano perpendicolare all'asse del fuso, nè con le loro convessità guardano verso l'asse, ma invece sono stirate nella direzione del fuso medesimo e con le loro convessità guardano il corpuscolo polare corrispondente.

Nella figura 29 si ha l'inizio di un diaster, in cui uno dei semifusi è stirato ed ha trascinato con sè le sue anse.

Di forme simili a questa se ne possono vedere parecchie nei miei preparati: esse sono, secondo me, la conseguenza diretta di un *elettrotono del protoplasma*, per cui questo è rimasto per parecchio tempo *contratto* in una direzione costante. I movimenti anomali delle anse devono essere interpetrati come prodotti della contrazione del protoplasma o dei cambiamenti di tensione e di posizione delle fibrille traenti, le quali essendo collegate al citoplasma per mezzo del corpuscolo polare e delle fibrille della sfera d'attrazione, subiscono necessariamente l'influenza dei movimenti del citoplasma.

Desta un certo stupore che in questi epitelii sottoposti per un tempo non breve (10 giorni) a queste correnti indotte abbastanza intense, non si siano prodotti processi degenerativi. — È presumibile che questa influenza conservatrice sia stata data dai periodi di riposo, che si alternavano in questo caso con i periodi di elettrizzazione, essendo la controcorrente abolita.

Conclusioni.

A) — Certi gradi di temperatura possono rappresentare uno stimolo alla moltiplicazione cellulare indiretta, poichè negli epitelii epidermoidali, influenzati da questo agente fisico, due fatti si riscontrano:

I — L'aumento nel numero delle cariocinesi.

II — La presenza in questi epitelii di cariocinesi asimtriche, di cellule ipercromatiche ed ipocromatiche, da esse derivanti, e di cariocinesi multipolari.

B) — Questo stimolo mentre promuove un' attività riproduttrice esagerata, ha tendenza ad esaurire la vitalità cellulare; ed infatti, nei tessuti neoformati che maggiormente soffrono per quest' influenza (perchè meno resistenti) appaiono forme di degenerazione (vacuolare e pigmentaria).

C) — In seguito a queste degenerazioni si possono avere anomalie della cariocinesi, consistenti principalmente, e in disordine delle anse cromatiche (mancanza di orientazione) per rottura dei diversi elementi acromatici del fuso, e in alterazioni degli elementi cromatici stessi (fusione degli elementi cromatici, alterazioni di forma e di colorabilità di questi stessi elementi).

D) — La corrente galvanica non ha influenza diretta sulla cariocinesi; ma, indirettamente, tende ad annientarla, procurando metamorfosi regressive, che posson giungere fino alla necrobiosi del tessuto su cui essa corrente agisce.

E) — La corrente faradica, convenientemente applicata, ha un' azione piuttosto benefica per la riproduzione dell' epitelio epidermoidale, stimolando la divisione diretta delle cel-

lule. Tali correnti indotte alternanti impediscono probabilmente il potere d' orientazione del protaplasma, necessario alla cariocinesi, e per questo lo stimolo alla riproduzione si estrinseca con la divisione diretta.

F) — Una corrente interrotta che agisca in una sola direzione con intervalli brevissimi, produce uno stato di contrazione continua del protoplasma. Da ciò possono derivare figure cariocinetiche speciali, che non hanno però carattere patologico.

BIBLIOGRAFIA

1. Henneguy, Nouvelles récherches sur la division cellulaire indirecte. (Journal de l'Anat. et de la Phys., XXVII.)
2. Hansemann, Ueber asymmetrische Zelltheilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung. (Virchow's Arch., Bd. CXIX, 1890.)
   — Ueber pathologische Mitosen. (Ibid., Bd. CXXIII, 1891.)
3. Stroebe, Ueber Vorkommen und Bedeutung des asymmetrischen Kariokinese. (Ziegler's Beiträge, 1893).
4. Kruse, Deutsche medic. Wochenschr., 1891, S. 1428.
5. Klebs, Allgemeine Pathologie, Bd. II, Jena 1889.
   — Ueber die Bildung des Kernkromatin. (Fortschr. der Medic., 1888, S. 906.)
6. Ribbert, Deutsche medic. Wochenschr., 1891, S. 1182.
7. Hauser, Das Cylinderepithelcarcinom etc. Jena 1890, S. 72.
8. Harz, Das Carcinom. Festschr. für Thiersch. (Deutsche Zeitschr. für Chir., Bd. XXXIV.)
9. Vitalis Müller, Ueber celluläre Vorgänge in Geschwülsten. (Virch.'s Arch., Bd. CXXX, S. 512.)
10. Noeggerath, Beiträge zur Structur und Entwickelung des Carcinoms. Wiesbaden 1892.
11. Hanau, Referat der Arbeit Hansemann's. (Fortschr. der Medic., Bd. 1893, S. 15.)
12. Weismann, Ueber die Zahl der Richtungskörperchen. Jena 1887.
13. Lustig e Galeotti, Cytologische Studien über pathologische menschlische Gewebe. (Ziegler's Beiträge, Bd. XIV.)

14. Arnold, Beobachtungen über Kerntheilung in Geschwülsten. (Virchow's Arch., Bd. LXXVIII.)
15. Cornil, Sur le procédé de la division indirecte dans les cellules épithéliales des tumeurs. (Journal de l'Anatomie et de la Physiologie, an. XXXII, 1891, p. 97.)
16. Ziegler, Experimentelle Untersuchungen über die Herkunft der Tuberkelemente. Würzburg 1875.
17. Schottländer, Ueber Kern- und Zelltheilung-Vorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut. (Arch. f. Mikr. Anatom., Bd. XXXI, H. 3.)
18. Flemming, Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle. (Arch. f. Mikr. Anat., Bd. XXIX, H. 3.).
— Zellsubstanz, Kern- und Zelltheilung. Leipzig 1882.
— Beiträge zur Kenntniss der Zelle und ihrer Lebenerscheinungen und Ueber Epithelregeneration und sogenannte freie Kernbildung. (Arch. f. Mikr. Anat., Bd. XVIII p. 151 und 347.)
19. Eberth, Ueber Kern- und Zelltheilung. (Virch.'s Arch., Bd. XXXVII.)
20. Hegelmain, Botanische Zeitung, 1880.
21. Strasburger, Zellbildung und Zelltheilung. 1880.
22. Martin, Zur Kenntniss der indirecten Kerntheilung. (Virchow's Arch., Bd. LXXXVI.)
23. Tizzoni e Poggi, Sulla istogenesi del cancro dei testicoli. (Rivista Clinica di Bologna, 1886.)
24. Hertwig O., Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. (Morphol. Jahrbuch, Bd. IV.)
25. Waldstein, Ein Fall von perniciosen Anämie. (Virch.'s Arch., 1881.)
26. O. und R. Hertwig, Ueber den Befruchtungs- und Theilungsvorgang des thierischen Eies unter der Einfluss äusserer Agentien. Jena 1887.
27. Penzo R., Influenza della temperatura sulla rigenerazione cellulare. (Archivio per le Scienze Mediche, 1893.)
28. Galeotti G., Ueber experimentelle Erzeugung von Unregelmässigkeiten des kariokinetischen Processes. (Ziegler's Beiträge, Bd. XIV, H. II.)

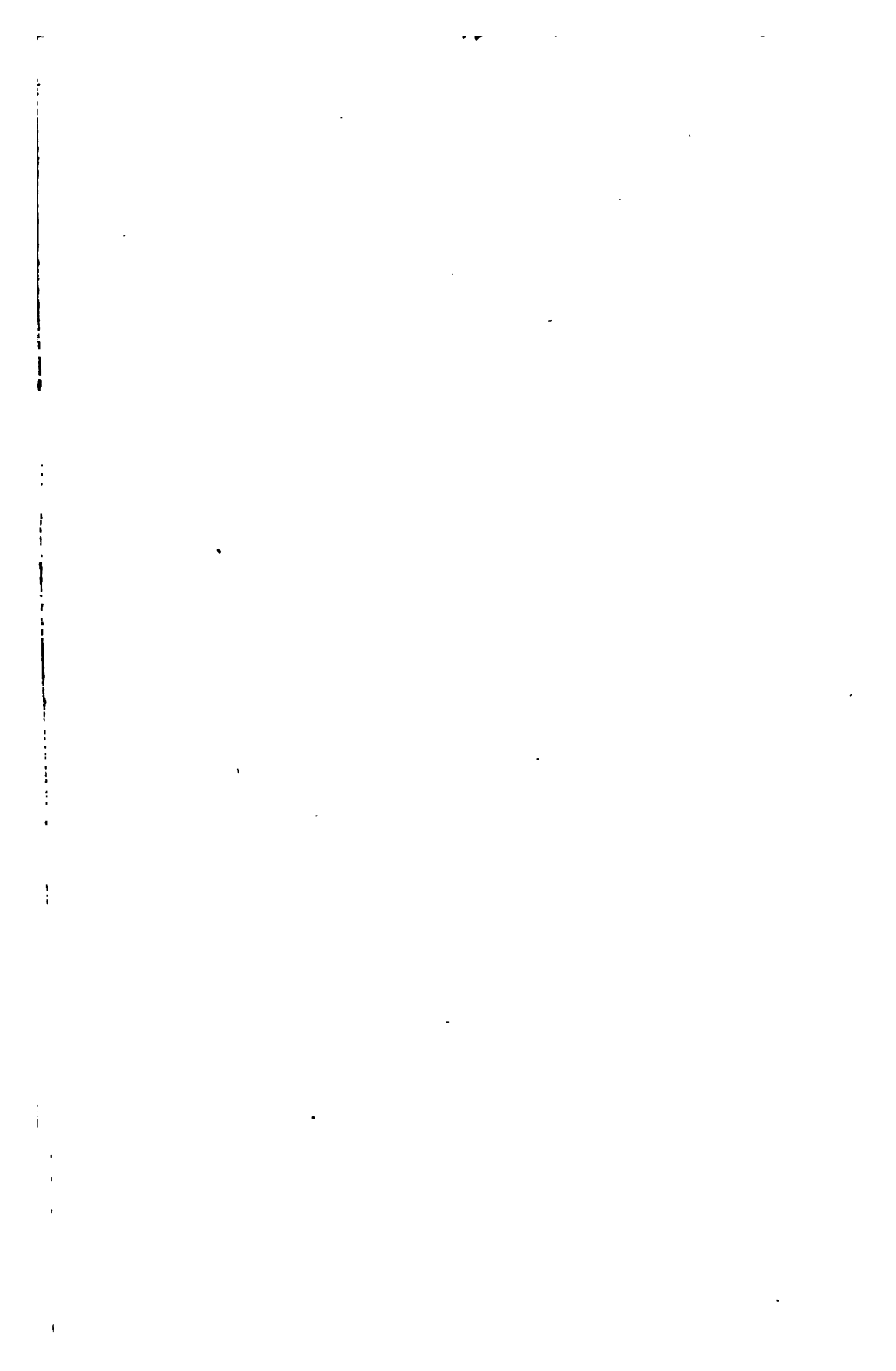
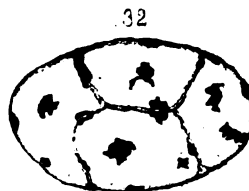
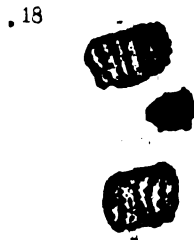
SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

Tutte le figure della tavola rappresentano cellule dell' epidermide di salamandre, che furono sottoposte a vari esperimenti, come è descritto nel testo. I disegni vennero eseguiti dai preparati colorati secondo il metodo di Flemming ed osservati con un microscopio Reichert (imm. omog. $^1/_{12}$. — Oculari III e IV. — Lunghezza del tubo 185-165. — Ingrandimenti 950-2000).

Ampie spiegazioni di ogni singola figura, si trovano nel testo.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

Fig. 1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.

„ 17.
. 18
„ 19.
. 20.
. 21
„ 22
„ 23.
. 24
. 25
. 26.
„ 27.
„ 28.
„ 29.
„ 30
„ 31.
.32

SULLA QUESTIONE DELL'UROBILINURIA.

APPUNTI CRITICI

DEL

PROF. GIUSEPPE MYA.

Il prof. Riva nel suo ultimo lavoro sull'urobilinuria pubblicato nel numero precedente, come pure in un altro lavoro recente sul medesimo argomento (1) mi ha fatto l'onore immeritato di occuparsi di alcune ricerche mie e di varii miei allievi, e sopratutto di alcuni concetti dottrinali da me emessi in varie occasioni a proposito del significato fisiopatologico della urobilinuria.

Prima di rispondere agli appunti critici generali, credo opportuno di chiarire esattamente il mio punto di partenza in tale questione, e di riassumere l'opera mia e degli allievi che ebbi a collaboratori in simile argomento.

Dopo essermi occupato sin dal 1887, prima di qualsiasi altro osservatore italiano, della produzione della stercobilina nel lume intestinale (osservazioni recentemente confermate dallo Schmidt (2), ripresi tale argomento nel 1890, indottovi dai lavori di Hayem (3) e di Tissier (4), i quali vollero ravvisare nell'urobilinuria un sintomo delle lesioni iniziali ed avanzate della cellula epatica.

Il lavoro di Viglezio (5), quello mio sulla fisiopatologia dell'itterizia (6), e la mia relazione sull'itterizia letta a Roma nel Congresso di medicina interna del 1891, corrispondono a questo primo obiettivo.

Per la prima volta nel lavoro di Viglezio la ricerca della urobilina fu sottoposta ad un metodo chimicamente attendibile,

vale a dire la sua quantità fu approssimativamente calcolata nelle urine delle 24 ore. Venne così studiato un numero discreto di ammalati in modo uniforme, ed il risultato fu la negazione del concetto di Hayem. Nelle forme degenerative più gravi del parenchima epatico, l' urobilina manca od è scarsamente rappresentata nelle urine; l' urobilina aumenta nelle urine in rapporto colla emolisi e colla ritenzione biliare.

Questi i fatti, che ebbero conferma e sanzione definitiva dalle ricerche nostre, e che resero insostenibile la dottrina di Hayem, la quale per altro continua ad essere applicata ad ogni piè sospinto dagli AA. francesi.

Preoccupato in seguito dell' importanza, che G. Hoppe-Seyler (7) dava alla provenienza intestinale dell' urobilina, nel dubbio che le alterazioni funzionali del tubo digerente potessero alla loro volta influire sull' aumento dell' urobilina nelle urine, ho fatto studiare dal Bargellini (8) i rapporti della stitichezza e della diarrea coll' urobilinuria, e venne dimostrata chiaramente la mancanza di qualsiasi rapporto tra le condizioni motorie dell' intestino e l' urobilinuria.

Riassumerò per maggior chiarezza questi risultati.

1° Si conferma con larga base clinica studiata per la prima volta con metodo uniforme il rapporto tra l' emolisi e l' urobilinuria (Viglezio).

2° Importanza dell' integrità renale per la produzione dell' urobilinuria (Viglezio).

3° Assenza di rapporti evidenti tra le condizioni motorie del tubo intestinale e l' urobilinuria (Bargellini).

4° Conferma della coincidenza notata prima da Leube Quincke e da altri tra la bilirubinemìa e l' urobilinuria (Mya).

Non mi trattengo sull' ultimo lavoro pubblicato sotto la mia direzione dal dott. Giarrè, perchè l' A. se ne è occupato personalmente nell' articolo che segue.

Questa la parte essenziale della mia opera: quella che riguarda il contributo di fatti positivi portati dai miei allievi e da me alla patogenesi dell' urobilinuria.

In relazione con queste ricerche, volendo opporre alla dottrina epatica così vigorosamente sostenuta dall' Hayem e dai

suoi allievi un altro concetto dottrinale, che si conciliasse bene coi fatti assodati, ho fatta mia un' ipotesi emessa già da altri (Kunkel e Leube), secondo la quale l' urobilina presente nell' urina in condizioni patologiche proviene dalla bilirubina modificata per opera dei tessuti viventi e principalmente dei reni.

L' urobilinuria, secondo questo mio modo di vedere, corrisponderebbe nelle varie gradazioni dell' itterizia ad un grado di pigmentazione biliare meno intenso della bilirubinuria, la quale sarebbe invece in rapporto coi gradi più intensi della cromocolemia. Questo concetto puramente dottrinale venne da me appoggiato ad alcuni dati di fatto clinici ed al concetto generale sul ricambio materiale, secondo il quale la maggior parte delle sostanze organiche che circolano nel sangue o vengono fissate nei tessuti, subiscono gli effetti del metábolismo organico, essendo suscettibili di sintesi, di riduzioni e di ossidazioni.

Ho notato io stesso il carattere esclusivamente ipotetico, interpretativo di questo concetto, cui mancava la dimostrazione diretta dalla riduzione della bilirubina in urobilina per opera degli organi viventi o sopravviventi; ma, tenendo conto che in molti altri punti indiscussi del ricambio materiale, quali sarebbero la produzione dell' urea dalle sostanze albuminose, dell' indacano dall' indolo e via discorrendo, esiste un' identica lacuna, senza che per questo si dubiti della realtà delle rispettive trasformazioni; richiamando tutti i fatti sperimentali relativi alla trasformazione per riduzione di alcune sostanze coloranti introdotte nell' organismo vivente, calcolando la grande labilità della molecola de' pigmenti biliari, ho creduto di poterla licenziare al pubblico medico, senza contravvenire alle regole logiche indispensabili per fondare qualsiasi concetto ipotetico.

Dichiaro fin d' ora che ho dato e do la maggiore importanza ne' miei lavori ed in quelli da me diretti alla categoria de' fatti; che quanto all' ipotesi pigmentaria, ne riconobbi io pel primo la base prevalentemente clinica e speculativa.

Il prof. Riva, che fin dal 1888 in una sua breve comunicazione preventiva senza risultati definitivi era entrato in quest' ordine di ricerche col dott. L. Zoia (9), è ritornato più re-

centemente sullo stesso argomento con una serie di fatti in parte nuovi, che hanno notevolmente arricchito la dottrina dell' urobilinuria; e da ultimo ha voluto raccogliere con sintesi robusta le proprie ed altrui osservazioni, adottando un concetto parzialmente nuovo, quello dell' origine epato-intestinale dell' urobilina.

Questo concetto si compone di due parti distinte. La bilina, che si trova nelle urine (urobilina) proviene dalla bilina fecale (stercobilina), ed in questo il Riva ammette quanto sostengono G. Hoppe-Seyler, Müller, Gehrardt e il Noorden. La parte originale della dottrina del Riva consiste nel valore che egli assegna alla funzione biligenica del fegato nella produzione dell' urobilinuria. In condizioni, che l'A. non precisa, ma che sarebbero più che altro la conseguenza di una lieve modificazione funzionale della cellula epatica, questa secerne una bile contenente dei pigmenti suscettibili di cambiarsi in stercobilina e stercobilinogene molto più facilmente della bile prettamente fisiologica. Questa modificazione funzionale non deve oltrepassare certi limiti, perchè lo stesso A. ha dimostrato che nelle gravi lesioni delle cellule epatiche, quali sarebbero, ad esempio, quelle prodotte dall' avvelenamento per fosforo, la bilina manca o si trova scarsissima nelle feci e nell' urina. L' A. non è nemmeno esplicito sulle cause della riduzione della bilirubina in urobilina; non accoglie e non respinge interamente quanto i più attualmente sostengono, che cioè tale trasformazione sia la conseguenza dei processi putrefattivi d' origine batterica, che si svolgono nel lume intestinale (*).

Comunque sia, la bilina intestinale prodottasi in copia maggiore dell' ordinario per le peculiari condizioni qualitative e

(*) A questo proposito ricordo d' essere stato il primo a dimostrare che la putrefazione determinata in vitro trasforma la bilirubina in urobilina. Il Riva, citando queste mie ricerche, scrive che io ho dimostrato questo fatto per il bacillo di Bienstock o *bacillus putrificus coli*, e per il bacillo del colon o colibacillo di Escherich. Non ho fatto o comunicato alcuna ricerca col colibacillo, e quanto al bacillo di Bienstock, in base a quanto è stato osservato più tardi, dopo la pubblicazione del mio lavoro, sono pronto a riconoscere che si trattava con tutta probabilità di un proteo putrefaciente corrispondente per le sue proprietà a quelle, che il Bienstock aveva stabilito per il suo speciale bacillo.

quantitative della bile si riassorbe e pel tramite sanguigno e linfatico passa nel sangue e viene poi emessa per la via renale.

Questa ipotesi è dal Riva messa in rapporti coll' urobilinuria da policolia (avvelenamenti per tossici ematici, malaria ed altre infezioni), col fatto interessantissimo da lui stabilito che la dieta lattea in soggetti affetti da cirrosi epatiche e forme epatiche consimili riduce notevolmente la quantità dell' urobilina nelle feccie e nelle urine; e le vie di assorbimento sarebbero dimostrate da ricerche chimiche eseguite nel contenuto del dotto linfatico e delle varie vene tolti da cadaveri umani e da cani. Secondo le vedute esposte ne' miei lavori antecedenti e sostenute dal Giarrè nel suo ultimo lavoro, questa dottrina non spiega certi fatti clinici bene assodati e soprattutto l' esistenza di una fase iniziale nell' ittero da riassorbimento, in cui la bile diminuisce nell' intestino, mentre compare l' urobilina nelle urine. Io ammetto col Riva, che in questa fase non vi sia che difficilmente una mancanza assoluta di bilina nell' intestino; ma la quantità sua è scemata in confronto di quanto avviene nel sano (parlo dell' ittero catarrale), è certo che anche in questo periodo la bile passa dai dotti biliari nel sangue per le vie linfatiche, è certo che in queste condizioni esiste la bilirubinemia, giacchè anche le sclerotiche cominciano a tingersi; eppure, osservando nel momento opportuno, nell' urina le reazioni positive non si hanno che per l' urobilina notevolmente aumentata sulla cifra media normale nel sano.' Il Riva risponde che la bilirubina esiste nell' urina, ma è al disotto di quei certi limiti, in cui la reazione di Gmelin la svela (*Yolles*); e quanto alla bilina scarsa nell' intestino ma abbondante nell' urina, ritiene che la bile sia di quella tal qualità, per la quale l' urobilina si forma più abbondante e in maggior abbondanza si riassorbe. Ma è evidente che in tal caso egli cade nello stesso inconveniente, che a noi rimprovera quello di accomodare i fatti alla propria dottrina, e non questa a quelli. Il Riva assegna, per sostenere la sua dottrina, una grandissima importanza al parallelismo tra le quantità della stercobilina e dell' urobilina e dei respettivi cromogeni. Ora, prescindendo dalle difficoltà notevoli ed in parte insormonta-

bili, che oppongo a stabilire con sicurezza l' esistenza di un simile parallelismo, difficoltà, che non ripeto, perchè riferite dettagliatamente nel lavoro del Bargellini (pag. 6), e che in parte lo stesso Riva ammette, questo parallelismo non è dimostrato sicuramente che per una sola categoria di casi, per i casi di policolia, qualunque ne sia la causa. Ma nella policolia esiste per lo più quell' altra condizione patogenetica, secondo me, dell' urobilinuria, vale a dire, il riassorbimento diretto della bilirubina dalle vie biliari; e basti citare la policolia malarica, pneumonica e pirodinica, nelle quali tutte si può produrre l' itterizia vera e propria, mentre comunemente si ha la sola urobilinuria con pigmentazione itterica lieve della sclerotica. All' infuori dei casi di vera policolia, il parallelismo quantitativo tra stercobilina ed urobilina non esiste o non è dimostrato. Non esiste, checchè se ne dica, nell' uomo sano; perchè io conosco più d' un caso, in cui ad un' abituale eliminazione di molta stercobilina corrisponde un' urobilinuria assolutamente insignificante; non esiste nel cane e manca infine in tutti quei casi morbosi, di cui ha riferito un esempio classico il Giarrè, in cui ad una intensa urobilinuria corrisponde una quantità scarsissima di bilina fecale. E se per questi ultimi casi il Riva ammette una bile più trasformabile del solito, è certo che deve ricorrere ad un' ipotesi pura e semplice.

Nella dottrina pigmentaria esiste un lato ipotetico, ma più di un' ipotesi è richiesta dalla dottrina del Riva nel periodo attualmente da essa attraversato. In quali limiti è circoscritta la modificazione funzionale delle cellule epatiche necessaria per segregare la bile speciale, meglio trasformabile, che è elemento fondamentale della sua dottrina? Qui sta, a mio avviso, il lato meno preciso della dottrina del Riva, e coloro, i quali dovrebbero rinunziare alla propria per accettare la sua, hanno il diritto di vedere un po' più addentro in questo suo speciale concetto. Per conto mio non posso per ora associarmi a questa tendenza di assegnare a dei prodotti chimici, per quanto di origine biologica, un grado maggiore o minore di trasformabilità spontanea o motivata da speciali agenti modificatori.

Arrivo fino a comprendere che la quantità di una deter-

minata sostanza chimica contenuta in un dato secreto possa far variare la quantità del prodotto, in cui la detta sostanza chimica si trasforma; ma *la esistenza di una proprietà speciale impressa ad una data sostanza, di essere più o meno facilmente trasformabile in un' altra, dalla disposizione funzionale della cellula, che la secerne*, è un concetto per me affatto nuovo, ed il professor Riva non mi taccerà, spero, di misoneista, se io attendo la maturazione ulteriore di tale concetto prima di accettarlo. È evidente che il Riva all' ipotesi pigmentaria ne contrappone un' altra: l' ipotesi di una modificazione della funzione biligenica tutt'altro che dimostrata e precisata scientificamente. Qui può essere semplicemente questione di preferenza, di maggiore o minore accomodamento ai fatti osservati da questo o da quello; ma io, sempre disposto ad accogliere i fatti bene accertati, primo a riconoscere i servigi numerosi che il Riva ed i suoi allievi hanno reso al capitolo dell' urobilinuria, non vedo ancora le ragioni per le quali debba lasciare la teoria pigmentaria per quella epato-intestinale: poichè, ipotesi per ipotesi, mi pare meglio definita la prima.

Nè i fatti e gli argomenti addotti dal Riva nel suo ultimo articolo mi paiono risolutivi. Il Giarrè, direttamente interessato nella questione, ha risposto punto per punto; ed io mi fermo quindi ai concetti generali.

Il Riva conviene che i rapporti della bilirubinemia o, in altri termini, dell' itterizia coll' urobilinuria, rapporti clinicamente incontestabili, e che io col Leube, col Jaksch ed altri ho contribuito ad allargare, costituiscono la parte più oscura della questione; ed è naturale che tale sia per lui, ma non per i sostenitori della dottrina pigmentaria.

Alcune ricerche sperimentali lo portano alla conclusione che l'urobilina assorbita normalmente dall' intestino è distrutta in parte dall'organismo, ed anzi modificata probabilmente in bilirubina. Questo fatto è della più grande importanza per i sostenitori della dottrina pigmentaria, che hanno sempre messo in dubbio nell'uomo sano l'esistenza di un parallelismo tra la quantità della stercobilina e la quantità dell'urobilina. Resta a domandarsi perchè una simile distruzione o trasformazione del-

l'urobilina sia completamente soppressa in speciali condizioni morbose; e per quanto i sostenitori della dottrina epato-intestinale possano rispondere, che in tali condizioni la quantità della stercobilina riassorbita è tale da eccedere la possibilità di una sua quasi totale distruzione, rimangono sempre i casi di urobilinuria senza corrispondente policolia, come nell'ittero gastro-duodenale, nella cirrosi atrofica, che resisteranno a simile spiegazione.

Il prof. Riva muove di quando in quando qualche appunto ad uno de' nostri capitali argomenti; alla diversità colla quale il neonato ed il cane si comportano di fronte alla pigmentazione itterica. Per l' A., che ammette così facilmente delle modificazioni funzionali nelle cellule epatiche con corrispondenti deviazioni nei prodotti secreti, dovrebbe essere facile accettare questo concetto ben dimostrato delle varietà, con cui le varie specie animali o le varie età si comportano di fronte al fatto della pigmentazione itterica. Io sono persuaso che dalle ricerche istituite sugli animali poca luce si potrà trarre, per risolvere definitivamente la questione che c' interessa. Ho rinunziato da lungo tempo a tentativi sperimentali istituiti in simile indirizzo, perchè mi sono persuaso della grandissima facilità, con cui i cani emettono urine contenenti pigmenti biliari. In tre cani apparentemente sani e tenuti nel laboratorio fisiologico di Firenze allora diretto dall'illustre prof. Luciani, nei quali il prof. Oddi ed io intendevamo studiare (anno 1892) gli effetti dell'estirpazione del plesso celiaco sulla funzione biliare, bastò la semplice introduzione nella gabbia capace, destinata a raccogliere l' urina, perchè questa contenesse pigmenti biliari se esaminata a fresco, ed insieme a questi dell' urobilina, se raccolte dopo trascorse 24 ore dal principio della loro emissione. Per chiarire anche meglio la differenza, che intercede tra cane e uomo adulto nel riguardo dell'itterizia, basta ricordare il loro diverso modo di comportarsi nell' avvelenamento da pirodina. L' uomo presenta delle quantità rilevanti di urobilina nelle urine e bilirubina nel sangue sino ad un lieve ittero, mentre le feccie si fanno policoliche; il cane invece elimina sin da principio del pigmento biliare per modiche dosi

e dell' emoglobina con pigmenti biliari per dosi più elevate. Eppure tanto il cane che l'uomo, di fronte a questo modo diverso di comportarsi delle urine, hanno contemporaneamente molta stercobilina nel lume intestinale durante l'azione della pirodina.

Ritengo che le questioni tuttora pendenti sulla patogenesi dell' urobilinuria potranno essere felicemente composte e risolute soltanto coll' osservazione di casi clinici analoghi a quelli, che il Giarrè potè seguire nel nostro Arcispedale e sul quale ha riferito. Dalla descrizione di questo caso studiato nel mio laboratorio con molta cura e senza il menomo preconcetto, seguendo anzi i metodi di ricerca proposti dal prof. Riva, risultano dai fatti, che io non riesco a conciliare nè colla dottrina intestinale, nè con quella epato-intestinale.

Del resto io non ho mai avuto la pretesa di aver risolto co' miei lavori e co' miei concetti dottrinali le molte dubbiezze, che esistono in questo campo, e riconosco per primo che troppe lacune vi sono ancora in questo capitolo di chimica biologica, perchè si possa sin d'ora addivenire ad un concetto stabile e definitivo (10). Ma la dottrina, che pone al vertice de' pigmenti normali e patologici dell' uomo e degli animali l'emoglobina, e da questa fa derivare il pigmento biliare, e da entrambi per vece assidue di riduzioni e di ossidazioni molti tra i pigmenti, che si trovano nel siero sanguigno, nella linfa, nell'urina e via discorrendo; dottrina, che farebbe rientrare la formazione di questi pigmenti nel grande capitolo del metabolismo organico, presenta anche oggi giorno, dopo le critiche del Riva, tali attrattive, che non mi so decidere ad abbandonarla.

ACCENNI BIBLIOGRAFICI.

(1) Riva, Sulla patogenesi dell' urobilinuria. (Estratto dall' opera « Le scuole italiane di clinica medica ».)

(2) Schmidt, Ueber Hydrobilirubinbildung im Organismus unter normalen Verhältnissen. (Atti del XIII Congresso tedesco di Medicina interna, 1895, pag. 320.)

(3) Hayem, Du sang. — Cap. « Ictère et urobilinurie », pag. 485-517. Paris, Mosson, 1889.

(4) Tissier, Essai sur la pathologie de la sécretion biliaire. Paris, 1889.

(5) Viglezio, Sulla patogenesi dell'urobilinuria. (Sperimentale, anno XLV, fasc. 3°.)

(6) Mya, Sul vomito urobilinico nelle occlusioni del tenue. (Rivista clinica, anno 1887, n. 9.)

—— Sulla fisiopatologia dell' itterizia. (Archivio italiano di clinica medica, puntata II, anno XXX, 1891.)

(7) G. Hoppe-Seyler, Ueber die Ausscheidung des Urobilins in Krankheiten. (Virchow's Archiv, Bd. 124, pag. 30.)

(8) E. Bargellini, Sui rapporti della urobilinuria con le condizioni del tubo intestinale. (Sperimentale, anno XLVI, fasc. 2°.)

(9) Riva e L. Zoia, Sulla bilina nelle feci e nelle urine, 1888.

(10) Per convincersi delle restrizioni, che io stesso ho messo alla mia interpretazione, basta leggere le conclusioni complementari annesse alla mia fisiopatologia dell' itterizia citata più sopra.

SULLA PATOGENESI DELLA UROBILINURIA.

RISPOSTA

A UNA NOTA CRITICA DEL PROF. A. RIVA.

DOTT. CARLO GIARRÈ

libero docente di Pediatria nel R. Istituto di Studi superiori in Firenze.

Il prof. Riva, nel 1° fascicolo dello *Sperimentale* (Archivio di Biologia), 1896, ha fatto oggetto di una critica il mio lavoro *Sulla Urobilinuria nell'età infantile*, pubblicato in uno degli ultimi numeri dello *Sperimentale* (Sezione Biologica), anno XLIX, fasc. I e II.

Premetto che in questa risposta non mi occuperò delle critiche fatte ad autori citati da me nel corso del mio lavoro o da me non ricordati, quali Patella, Accorimboni, Bordoni, Cecchini e Zannetti.

Sarò brevissimo limitandomi al terreno puramente obiettivo della questione.

L'A. inizia la sua critica dicendo, che nel mio lavoro non è riuscito a trovare che ben pochi argomenti di fatto valevoli a sostenere le mie conclusioni (vedremo più tardi quali esse sieno), e poco appresso aggiunge che le osservazioni da me fatte *Sulla Urobilinuria in alcune malattie infettive dei bambini* (morbillo, scarlattina, difterite, polmonite, tifo, ecc.), mentre illustrano un nuovo punto della patologia infantile gli pare non abbiano peso sulla questione della patogenesi della urobilinuria.

Rispondo che il prof. Riva mi attribuisce intenzioni, che io non ho avuto nè espresso in alcun modo, ben sapendo che i casi di urobilinuria da policolia si spiegano altrettanto bene colla teoria pigmentaria che colla teoria intestinale, tanto è vero che io stesso di tali osservazioni non mi son valso affatto nella

4ª parte del mio lavoro, dove ho preso in esame le varie teorie oggi vigenti sulla fisiopatologia della urobilinuria.

Con quella lunga serie di ricerche (72 osservazioni) io mi era semplicemente prefisso di studiare se l'eliminazione di urobilina in rapporto all' emolisi prodotta da infezioni diverse, si comportasse nei bambini in modo analogo a quello che si verifica negli adulti e mi sembra, come ammette lo stesso Riva, di aver raggiunto l' intento. Per tale scopo non era necessario l' esame comparativo della stercobilina, ed io l' ho tralasciato perchè se, come con argomenti molto convincenti ha dimostrato il Bargellini, difficilissimo è un dosaggio esatto della bilina nelle feci degli adulti, di gran lunga più difficile e direi quasi impossibile esso appare a chi si accinge a fare numerose ricerche su varie malattie infettive dell' infanzia, nelle quali la diarrea è un fatto frequentissimo se non costante, e la più gran parte delle feccie liquide viene emessa nel letto e quindi perduta per l' analisi.

Ma l' egregio oppositore sembra avermi compreso inesattamente anche quando passa in rassegna i miei studi sulla *urobilinuria nei lattanti.*

Se io dico a pag. 41 che l' urobilina abitualmente mancante nell' orina dei lattanti vi compare allorchè questi sono colpiti da infezione pneumonica, mentre l' esame delle feci non mostra proporzionale aumento della stercobilina, appare evidentissimo a qualunque giudice spassionato e imparziale che io mi riferisco non alla prima serie di osservazioni, alcune delle quali riguardano polmonite, broncopolmonite o pleurite in bambini di 2, 3 e più anni, ma precisamente alle osservazioni 92ª, 93ª e 94ª, nelle quali si verificarono queste circostanze sfavorevoli alla teoria propugnata dal Riva, e cioè focolaio di broncopolmonite o di polmonite crupale in bambini lattanti, assenza o scarsezza di bilina nelle feci e quantità anormale di bilina nelle orine. Questi sono i dati di fatto, su cui si appoggia la mia asserzione; dati di fatto, che io non ho per niente espresso in forma quasi dubitativa, e che secondo il Riva resterebbero di difficile interpretazione, secondo me invece per loro soli parlano in modo decisivo contro la provenienza intestinale della

bilina urinaria e si spiegano senza difficoltà colla teoria pigmentaria. Per oppugnarli non basta il dire che l'assorbimento diffuso dello spettro proprio della biliverdina delle feci doveva rendere difficile lo stabilire l'esistenza o meno della linea spettrale urobilinica, perchè, come io aveva fatto notare in osservazioni precedenti, quando i due pigmenti si trovano associati, con diluzione progressiva dell'estratto alcoolico fecale, si riesce a distinguere la stria in *F* propria della stercobilina dall'assorbimento diffuso della biliverdina. E tanto meno poi vale mettere un punto interrogativo alla mancanza di stercobilina da me constatata in simili casi. A me sembra che quel punto d'interrogazione non abbia nessun valore come argomento scientifico.

Com'è naturale, il prof. Riva accetta integralmente le mie conclusioni sulla mancanza di urobilinuria nell'*itterizia dei neonati;* anzi le dichiara conformi a quelle ottenute da altri autori e da lui stesso con ricerche, le quali però, per quanto io mi sappia, non sono state ancora pubblicate. Le accetta integralmente e le approva perchè gli sembrano favorevoli alla teoria intestinale, ma io che nei neonati normali come negli adulti ho trovato mancante ogni parallelismo fra stercobilina e urobilina, e che anzi in condizioni patologiche (*polmonite dei lattanti*) ho veduto comparire l'urobilinuria mentre nelle feci mancava il pigmento bilinico, io, che per altre importantissime ragioni già svolte nel mio lavoro precedente, non posso ammettere la esclusiva origine intestinale della urobilina, ho cercato di spiegare la differenza fra l'ittero dei neonati e l'ittero dei bambini o degli adulti con quelle peculiari condizioni, in cui si svolge nei primi giorni della vita extrauterina il ricambio materiale in genere e la funzione renale in specie.

Io stesso ho enunciato tale spiegazione in via ipotetica, ma la mia ipotesi non è così vulnerabile e così strana come si affretta a dichiararla il Riva; essa si fonda su fatti ormai acquisiti alla scienza e a tutti cogniti, quali l'albuminuria e la glicosuria dei neonati e le belle ricerche di Cruse e Hofmeier sul pigmento biliare nell'*itterus neonatorum.* Se il rene dei neonati si comporta in modo così speciale di fronte alla

bilirubina che questa non si può dimostrare colle comuni reazioni, quale stranezza vi è a supporre che anche di fronte a un derivato di essa, cioè all'urobilina, lo stesso organo si comporti diversamente che non negli adulti?

La 2ª parte del mio lavoro riguarda l'*urobilinuria in alcune malattie epatiche dell'infanzia.* Alcune di queste osservazioni, come quelle di degenerazione grassa o amiloidea del fegato, sono state da me utilizzate per combattere la teoria epatica di Hayem e Teissier e ad esse il Riva non trova da fare obiezione alcuna. Critica invece quelle che si riferiscono alla *urobilinuria nell'itterizia da angiocolite catarrale* (osserv. 73ª e 74ª), perchè nella 1ª soltanto io avrei con certezza riscontrato una traccia di urobilina nella fase iniziale e ascendente dell'ittero.

Correggerò subito una inesattezza in cui, certo inavvertitamente, è caduto l'A. riportando questa mia osservazione. Qui non si trattava di una traccia ma di una quantità dosabile di pigmento con fluorescenza e stria evidentissima, quantità tale che chiunque abbia eseguito molte ricerche in individui normali può senza dubbio ritenere anormale o patologica. Io possedevo allora una sola osservazione personale di tal genere, e il Riva vorrà ammettere con me che assai di rado accade di avere l'opportunità di studiare simili ammalati proprio nel 1° periodo dell'itterizia quando le orine non contengono ancora pigmento biliare, o ne presentano solo traccie insignificanti in confronto alla quantità di urobilina. Ma ogni singolo caso, aggiunto a quelli di autori, che ci hanno preceduti, accresce efficacia al fatto importantissimo della mancanza di parallelismo fra bilina delle feci e bilina delle orine, ed io ho inteso appunto, sia pure con un caso solo, di portare così il mio modesto contributo alla teoria pigmentaria, nè ho dimenticato di rafforzare la mia scarsa esperienza personale coll'autorità di quanti mi hanno preceduto in osservazioni consimili, quali il Mya, il Patella, l'Accorimboni e il Bordoni.

Il prof. Riva per attenuare l'impressione di tali studi, che costituiscono uno dei più forti argomenti contro la teoria intestinale, arriva fino a supporre che io non abbia letto bene i casi di Patella e Accorimboni, perchè vi sono in essi alcune

particolarità che a suo avviso tolgono loro ogni importanza nella questione. Queste particolarità consisterebbero nell'essere bensì grigiastre e poco colorite le feci nella fase iniziale dell'ittero da ritenzione, ma non del tutto prive di stercobilina; anzi dice l'A. con abbondante bilina?

Francamente io non comprendo perchè tale particolarità che non mi era sfuggita (può esserne certo il prof. Riva) tolga ogni importanza alle osservazioni dei dottori Patella e Accorimboni. Nessuno, credo, vorrà ammettere che salvo il caso di chiusura assoluta del coledoco venga a mancare completamente il deflusso biliare nel lume intestinale nella fase ascendente dell'itterizia, ma nessuno potrà altresì ragionevolmente sostenere che in tal periodo sia aumentata la quantità di pigmento biliare, che passa nell'intestino e quindi anche la stercobilina, che ne deriva. Ed è appunto il comparire di una urobilinuria abbondante, anormale, quando vi è evidente ipocolia fecale, che non è possibile, almeno per ora, spiegare coll'origine enterica della urobilina.

Il Riva, arrivato a questo punto, cerca contrapporre all'evidenza dei fatti una ipotesi, ingegnosa senza dubbio, ma alla quale manca ancora la sanzione di esperienze chiare, precise e persuasive, voglio alludere alle varietà della bile nel senso della maggiore o minore trasformabilità della bilirubina in sterco od urobilina. Ma in verità, le analisi da lui fatte su molte bili cadaveriche (una sola fu tolta dal vivo ed esaminata a fresco) non si possono facilmente accettare e d'altronde si può sempre rispondere a questo nuovo concetto, da lui introdotto nella patogenesi della urobilinuria: A che giova fare delle ipotesi sulla maggiore o minor trasformabilità della bile quando è ben stabilito che, anche in condizioni normali, la maggior parte del pigmento biliare viene trasformato in stercobilina nelle feci, eppure non si osserva o solo in traccie minime bilina nelle orine?

Ma anche in questo campo di discussione meglio dei ragionamenti teorici valgono le osservazioni cliniche, ed è perciò ch'io credo non privo d'interesse riferire un caso classico, che ho avuto recentemente occasione di studiare e di seguire per assai lungo tempo.

Eccone in poche parole la storia:

Pieri Giuseppa di anni 65 di Stia, accolta nello Spedale di Santa Maria Nuova il 27 aprile 1895. Da 8 anni soffriva di caratteristici accessi di colica epatica, accompagnati da lieve e fugace itterizia; da 6 mesi cominciò ad avvertire un dolore fisso nella regione ipocondriaca destra poco distante dalla linea mediana, ebbe frequenti accessi di febbre preceduti da brivido di freddo, spesso vomito e divenne permanentemente itterica. Le feccie erano sempre grigiastre, le orine molto scure. Da un mese circa comparve una intumescenza molto dolente nell'ipocondrio destro. Esaminata dal dott. Sacchi e dal prof. Banti, fu fatta diagnosi di colecistite suppurata, e il 7 maggio il dott. Sacchi eseguì la colecistotomia, e fu dato esito al pus. Nonostante verso la linea mediana poco al di sopra dell'ombelico si aprì spontaneamente una fistola, da cui cominciò a sortire in discreta copia la bile. Per agevolare la chiusura del seno fistoloso e perchè la paziente seguitava ad aver febbre quotidiana intermittente, e si manteneva intensamente itterica, fu fatta una seconda incisione e colla sonda si trovò un calcolo, incuneato nel dutto cistico, che si ruppe nei tentativi di estrazione. Dopo ciò la malata migliorò assai, diminuì l'itterizia e scomparve la febbre, continuando però la fuoriescita della bile dal seno fistoloso.

Io ebbi, col cortese assenso del curante dott. Sacchi, cui rivolgo qui i miei più vivi ringraziamenti, occasione di esaminare la donna il 20 ottobre 1895.

La malata è donna di costituzione robusta ma piuttosto magra. Le scierotiche hanno un evidente colorito verdognolo subitterico; la pelle e le muccose non sono tinte da pigmento biliare ma assai anemiche. La superficie anteriore del fegato è liscia, ma manifestamente più dura del normale. il margine inferiore del viscere è tutto quanto palpabile e tagliente dalla linea ascellare anteriore dove oltrepassa in basso la ombelicale trasversa fino alla parasternale destra, dove s'incontra una prima cicatrice lineare lunga circa 5 centimetri e diretta nel senso longitudinale del corpo. Da questo punto procedendo verso la linea mediana la palpazione non dà più un risultato netto, ma con essa si avverte una resistenza diffusa, e premendo in tale località, la malata accusa un leggiero dolore. Quasi a livello della linea mediana si nota una 2ª cicatrice imbutiforme, nel cui centro si apre un piccolo foro abitualmente coperto da una crosta verdognola, staccata la quale, uno specillo vi penetra per 4 centimetri circa seguendo un cammino assai tortuoso. Il lobo sinistro del fegato è tutto quanto impalpabile distintamente per probabili contratte aderenze colle pareti addominali. Il fegato si può difficilmente spingere verso l'alto e si abbassa pochissimo nei movimenti inspiratori. Anche la mobilità passiva del fegato è annullata.

La linea superiore dell'ottusità epatica si trova sulla parasternale

destra al 3° spazio intercostale, sull'emiclaveare al margine superiore della 4ª costa, sull'ascellare anteriore al margine superiore della 6ª. La parte più sinistra dell'ottusità stessa trasversalmente arriva 1 centimetro al di là della parasternale sinistra. Il diametro verticale massimo del fegato, determinato colla percussione, misura 17 centimetri. La milza è impalpabile e la sua area non è aumentata. Non esiste indizio di liquido nella cavità addominale.

Avendo saputo dal medico curante che giornalmente la malata perdeva dal seno fistoloso ancora esistente nell'ipocondrio destro una discreta quantità di bile, mi accinsi a fare contemporaneamente analisi qualitative della bile, delle orine e delle feccie. Eccone i risultati:

Analisi della bile. — Furono eseguite il 21 ottobre il 28 ottobre e il 6 novembre 1895. La bile fu raccolta direttamente dalla fistola in un tubo da saggio sterilizzato, profittando del fatto che due ore dopo il pasto principale dell'ammalata, con lievi pressioni nella regione della cistifellea, si otteneva facilmente un flusso biliare abbondante. 50 grammi di bile così raccolta, furon sempre divisi in due metà, utilizzandone una per l'analisi immediata lasciando l'altra nella provetta per successivi esami. I risultati furono identici tutte e tre le volte. Si ebbe sempre un liquido filante giallo-verdastro di reazione neutra, che esaminato direttamente allo spettroscopio mostrava solo un grande assorbimento diffuso dovuto alla bilirubina. Fu sottoposto alle reazioni stesse indicate dal prof. Riva (diluzione, aggiunta di acetato di piombo, e filtrazione, oppure estrazione con cloroformio e ossidazione con acido nitrico nitroso) e non si riuscì mai a vedere la stria di assorbimento urobilinico, nè a osservare la fluorescenza col reagente zinco-ammoniacale. Il liquido fu poi esaminato anche 24 e 48 ore dopo esser raccolto, e soltanto una volta si riscontrò in esso dopo che per due giorni era stato esposto all'azione dell'aria una distinta stria urobilinica e una reazione zincica positiva.

Analisi delle feci. — Furono fatte nei giorni 21, 28 ottobre, e 6 e 7 novembre 1895 e 6 gennaio 1896. La malata aveva regolarmente una evacuazione al giorno di feci formate, di un colorito marrone chiaro, qualche volta grigiastre, di un peso medio di 250 gr. Per estrarre bilinogene e bilina ho sempre stemperato 5 gr. di feci in 50 di alcool assoluto acidificato con 5 gocce di acido solforico puro e ho esaminato il filtrato allo spettroscopio e col reagente zinco-ammoniacale. Non è mai mancata una evidente fluorescenza; per un dosaggio approssimativo ho osservato allo spettroscopio una costante quantità dell'estratto alcoolico (2 cm^3) tenendo conto della maggior o minor dose di alcool assoluto che occorreva per diluire l'estratto stesso in modo che comparisse ben distinta la stria bilinica in F. Il 21 ottobre per giungere a tal risultato dovetti aggiungere 5 cm^3 di alcool ai 2 di estratto alcoolico fecale, il 28 ottobre 3 cm^3. soltanto; il 6 gennaio 2 cm^3. Nei giorni 5 e 7 novembre col trattamento sopra indicato ottenni un estratto alcoolico color sugo di carne, in cui si

vedeva nettamente la stria senza bisogno di ulteriore diluzione. Eseguii contemporaneamente in epoche diverse due analisi delle mie feccie (5 gr. in 50 di alcool acidificato) e ne ricavai una soluzione marrone scuro, 2 cm³ della quale richiedevano l'aggiunta di 9 e 10 cm³ di alcool assoluto perchè invece di un assorbimento nero di tutto il bleu e il violetto si vedesse distinta la stria bilinica in F.

Analisi delle urine. — Eseguite come per le feci nei giorni 21 e 28 ottobre, 6 e 7 novembre 1895 e 6 gennaio 1896. Eccone i risultati:

21 ottobre. — Quantità totale 700 gr. di colorito arancio scuro; estrazione dell'urobilina già visibile nell'orina semplicemente acidificata con solfato d'ammonio e alcool. Stria larga, nera, evidentissima; fluorescenza che compare col metodo del Viglezio a 0,12 di cm³ di soluzione alcoolica, equivalente a una quantità giornaliera di urobilina di 70 centigrammi.

28 ottobre. — Orina gr. 1100; stria visibile anche nelle orine fresche acidificate con acido nitrico nitroso; nettissima nell'estratto alcoolico col solito metodo. Fluorescenza iniziale con 0,15 cm³; quantità totale della urobilina: 37 centigrammi.

6 novembre. — Orine gr. 1250, di colorito tendente al marrone. Reazione del pigmento biliare positiva coi metodi di Gmelin e Rosin. Nella soluzione alcoolica stria sottile, ma evidente; fluorescenza visibilissima.

7 novembre. — Orina gr. 1230. Manca il pigmento biliare. Stria evidente anche nelle orine esaminate a fresco: larga e spessa nella soluzione alcoolica, di cui bastano 0,12 cm³ per fare comparire la fluorescenza in 10 cm³ di alcool, previa aggiunta di qualche goccia di reattivo zinco-ammoniacale. Quantità totale della urobilina: 50 centigrammi.

6 gennaio. — Orine gr. 1005, di colorito giallo arancio chiaro. Nell'estratto alcoolico si vede una stria sottile, la fluorescenza compare con 0,20 cm³. Quantità totale della urobilina: 25 centigrammi.

Contemporaneamente all'esame delle feci per controllo cercai per due volte l'urobilina anche nelle mie orine, ma sempre con risultato negativo.

Relativamente al decorso della malattia sono da notarsi in rapporto alle analisi fatte i seguenti episodi:

Nessun cambiamento si osservò nello stato della paziente, dal 21 ottobre sino al 5 novembre. In tal giorno e in quello successivo 6 novembre l'ammalata accusò malessere generale, dolori spontanei nella regione addominale ove corrispondeva la fistola e da questa contro il solito, si ebbe scarsissimo deflusso di bile. Poi le cose ripresero il loro corso regolare, e tali si mantennero per tutto il novembre. Nel dicembre diminuì progressivamente il deflusso biliare e la fistola si chiuse in modo completo.

Il 6 gennaio, ripetuto l'esame obiettivo, si notava sempre il colorito subitterico delle sclerotiche, l'ingrandimento già descritto del fegato, e la cicatrizzazione del seno fistoloso. Però erano assai migliori le condi-

zioni generali della paziente, che ha adesso buon appetito, ha un'evacuazione quotidiana di colorito marrone chiaro, urine di color arancio con urobilinuria persistente.

Ora io domando al prof. Riva com' è possibile colla sua teoria epatointestinale interpretare questo caso così nitido e così dimostrativo? Qui evidentemente esisteva deficenza di pigmento bilinico nelle feci e lo provano la perdita abituale di bile dal seno fistoloso e le varie analisi del contenuto fecale, messe a confronto con quelle delle feci di un individuo normale cioè di me stesso; qui non si può invocare la maggior trasformabilità della bilirubina in stercobilina, perchè le analisi della bile fresca eseguite con metodi identici a quelli indicati dal Riva, diedero sempre risultato negativo; eppure si constatò sempre nelle orine un aumento notevole della urobilina. Pei fautori della teoria pigmentaria invece la spiegazione di tale urobilinuria non potrebbe essere più semplice; l' ingrandimento notevole del fegato, il colorito itterico delle sclerotiche, la comparsa in qualche giorno di pigmento biliare nelle orine, la urobilinuria persistente parlano molto chiaramente in favore di una stasi abituale nelle vie biliari, e non mi sembra di fondare ipotesi sul vago o sul fantastico ammettendo che tale stasi fosse ancora provocata da un ostacolo permanente al deflusso della bile, per essere i grossi sbocchi di questa compresi e compressi nel tessuto cicatriziale, che si è sostituito alla cavità ascessuale prima esistente.

A rischio di sembrare ostinato, io dico francamente che casi simili hanno per me più importanza di un esperimento [1] fatto iniettando nell'intestino di una cagna 25 centimetri cubici di bile tratta da cadavere di uomo (non è indicato neppure di che malattia sia morto!), e mi confermano sempre più nel concetto che fino a prova in contrario la teoria più soddisfacente della urobilinuria è quella pigmentaria, sebbene anche in essa vi sieno ancora dei punti oscuri da chiarire e qualche dubbiezza.

---

[1] Di questo e di altri esperimenti recentemente comunicati dal Prof. Riva, non credo dovermi occupare qui, perchè a fatti sperimentali non si risponde con ragionamenti teorici, ma risponderò in seguito quando saranno ultimate alcune esperienze di controllo che sto adesso eseguendo.

E non starò a ripetere gli altri argomenti favorevoli a questa teoria, come quello della bilirubinemia anche di recente confermato da v. Yaksch e non certo menomato nel suo valore dalle ricerche del Riva sul contenuto del dutto toracico dei cadaveri, dove per opinione di valenti anatomici da me interpellati e per mia propria esperienza non si riesce a raccogliere una quantità di linfa sufficiente ad analisi della urobilina. Ritornerò piuttosto alla prima critica fattami dal prof. Riva, in quanto questi dichiara che nel mio lavoro ha trovato ben pochi dati di fatto valevoli a sostenere le mie conclusioni, e le riporto integralmente perchè desidero che su questo punto non resti il menomo dubbio nell' animo del lettore.

Ecco dunque quali erano le conclusioni incriminate:

1° *Nelle orine dei bambini in condizioni fisiologiche l'urobilina manca o si trova in traccie minime.*

2° *Nei neonati e nei lattanti sani manca l' urobilinuria, mentre specialmente in quelli nutriti con allattamento artificiale non è raro trovare la stercobilina nelle feci.*

3° *Nella polmonite dei lattanti si osserva di regola una discreta urubilinuria senza che ad essa corrisponda un aumento di stercobilina nelle feci, nelle quali anzi la policolia è spesso contrassegnata da una quantità più abbondante di bilirubina.*

4° *L'itterizia dei neonati non suole accompagnarsi a urobilinuria.*

5° *Nei bambini come negli adulti l' itterizia da angiocolite catarrale presenta una urobilinuria patologica nella sua fase terminale e anche nella iniziale. Fra le malattie del fegato quelle che si accompagnano a stasi biliare permanente producono anche nell'età infantile una urobilinuria durevole e di alto grado (fegato cardiaco, cirrosi epatica); in quelle che sono contrassegnate da grave ed estesa degenerazione delle cellule epatiche manca la urobilinuria (fegato amiloide).*

6° *Nella maggior parte delle malattie infettive dell' infanzia in rapporto all' aumentata emolisi si osserva una urobilinuria transitoria più o meno intensa, minima nella difterite, discreta nel morbillo, nel tifo e nella tubercolosi, più forte nella scarlattina, massima nella infezione pneumonica.*

Questi postulati emergono direttamente dalla lunga serie di osservazioni e di esperienze, da me eseguite nelle varie ma-

lattie dell'infanzia di cui ho diffusamente parlato nei capitoli 1°, 2°, 3° della mia memoria, si appoggiano tutti su fatti bene accertati e non sopra ipotesi, nè in esse vi è alcuno accenno a questa o a quella teoria sulla patogenesi della urobilinuria, teorie che vengono invece riassunte e discusse in un capitolo a parte, cioè nel 4°. È dunque evidente che l'A. nella sua critica fondamentale ha confuso le conclusioni di un lavoro con quella discussione teorica che per renderlo più completo suol farsi intorno alla fisiopatologia dell'argomento, di cui il lavoro stesso si occupa.

Poche parole infine su qualche appunto più di forma che di sostanza mossomi dal prof. Riva.

Un po' troppo severo mi sembra il rimprovero, che il professor Riva mi fa per avere io dimenticato di citare un lavoro dei dottori Cecchini e Zannetti, di cui francamente ignoravo l'esistenza. Coll'indirizzo moderno delle scienze mediche e colla quantità sempre crescente di pubblicazioni che si stampano giorno per giorno, può accadere di commettere involontariamente qualche trascuratezza bibliografica, e spero vorrà ammetterlo meco anche il prof. Riva che nella sua pregievolissima memoria sintetica sulla *Patogenesi della urobilinuria*, pubblicata nell'opera: « *Le Scuole italiane di Clinica medica* » ha creduto di non dovere rammentare, per esempio, i lavori del Gerhardt e del Müller, i quali prima di lui avevano illustrata o difesa con molti argomenti in gran parte ripetuti dal Riva stesso la teoria intestinale della urobilinuria, e non ha citato neppure il von Noorden che nel suo trattato classico sulla *Patologia del ricambio materiale* dedica un intero capitolo alla patogenesi della urobilinuria in senso favorevole alle idee, che il Riva sostiene.

E con questo ho finito, e per parte mia considero chiusa la polemica non senza prima ringraziare il chiarissimo clinico di Parma, che mi ha fatto l'onore di discutere punto per punto il mio modesto lavoro, il che quasi quasi mi farebbe supporre che, se ho ardito *spezzare una lancia* in favore della teoria pigmentaria, ho colpito nel segno più di quanto osassi sperare.

Laboratorio di Patologia generale del R. Istituto degli Studi Superiori in Firenze,
diretto dal prof. A. Lustig.

RICERCHE SULL'IMMUNIZZAZIONE DELLE CAVIE

CONTRO LA PERITONITE COLERICA

PEL

DOTT. GINO GALEOTTI.

Allorchè nella seconda metà del 1894 mi proposi di eseguire una serie di ricerche sulla immunità contro il colera, le idee sulla patogenesi del processo morboso, quale si verifica naturalmente nelle epidemie che colpiscono l'uomo, e sulla malattia che si può produrre sperimentalmente nelle cavie mediante il bacillo colerico, erano differenti da quelle che dominano adesso.

Allora ero convinto che in realtà nella sindrome clinica del colera avesse una parte principale l'elemento tossico; che ci fosse, tra il colera naturale dell'uomo e l'infezione peritoneale prodotta sperimentalmente nella cavie, una grande analogia, consistente principalmente in ciò, che fosse eguale in ambedue i casi il momento tossico e che solo ne fosse diverso il focolaio di origine; che, dato che fosse possibile trovare una sostanza, la quale introdotta nell'organismo fosse capace di distruggere o di neutralizzare l'azione di quell'elemento tossico, le esperienze di sieroterapia, praticate nelle cavie si sarebbero potute trasportare nel campo clinico per la cura dell'uomo. Ma per la conoscenza dei lavori pubblicati nell'anno 1894

stesso e nel 1895 ([1]) si modificarono grandemente queste mie idee, e mi persuasi allora che la peritonite colerica della cavie è una malattia assai differente dal colera intestinale dell' uomo; che l' elemento tossico ha nella patogenia di questa peritonite una parte infima, se pure ve ne ha alcuna; che questa peritonite è identica a quella che si può procurare nelle cavie con tanti altri bacteri, patogeni o no per l' uomo.

Le mie esperienze presero quindi una direzione diversa da quella fino allora da me seguita e mi proposi di studiare semplicemente la natura delle sostanze, capaci d' impedire lo sviluppo di questa peritonite nella cavie e il meccanismo con cui queste sostanze agiscono.

Le mie prime esperienze sono descritte più dettagliatamente. Nel riferirne altre, ho creduto utile di tralasciare molti particolari, come ad esempio il peso dell' animale, il modo con cui furon fatte le iniezioni preventive ed infettanti, il tempo interposto tra le iniezioni, ecc. Di altre esperienze infine, onde non ripetere continuamente le stesse cose, scriverò solamente il resultato per riguardo all' efficacia o no della sostanza provata.

Mi è però necessario di accennare ad alcune particolarità che si riferiscono al metodo di ricerca.

Adoperai in tutte le mie esperienze una coltura proveniente da un caso di colera di Castellamare, coltura che mi fu gentilmente fornita dal prof. De Giaxa insieme all' indicazione del suo potere patogeno, il quale era, e si mantenne durante tutto il corso delle mie esperienze il seguente: la dose mortale di una coltura in brodo di 24 ore di età era di 0, 15 °/$_0$ del peso dell' animale.

Le colture furono fatte in brodo di carne e peptone leggermente alcalinizzato. I controlli mi servirono per conservare attiva la specie bacterica. Appena morto un controllo ne aprivo, con le massime cautele antisettiche, la cavità peritoneale e dall' essudato praticavo le seminagioni in piastre di agar e dal-

---

([1]) Credo di poter tralasciare nella presente nota ogni esposizione bibliografica, poichè lo stato attuale delle cognizioni sulla immunità e sulla sieroterapia del colera fu da me trattato abbastanza diffusamente in uno scritto riassuntivo, pubblicato nel *Centralblatt für Allg. Path.*, vol. VI, n. 12-13.

l'agar facevo poi i trapianti in brodo. Quasi sempre avevo nell'agar i soli bacilli colerici.

Le iniezioni infettanti furon sempre fatte nella cavità peritoneale, con circa il doppio della quantità calcolata bastante per uccidere l'animale, di cui avevo determinato il peso.

Le iniezioni delle sostanze vaccinanti venivano fatte sempre sotto la pelle, mediante la siringa del Tursini sterilizzata.

Serie A.

Cominciai le mie ricerche col ripetere le esperienze già tante volte fatte sulla immunizzazione della cavie, mediante i *prodotti culturali dei bacteri colerici.*

Esperienza I. — *Preparazione del vaccino.* — Dimostrata la virulenza della coltura e controllatone il potere patogeno, innesto con essa tre palloncini, contenenti circa 50 cmc. di brodo e li pongo nella stufa a 37°. Poi tratto questi palloni nel modo seguente:

Riscaldo il 1°, dopo 24 ore di soggiorno nel termostato, a 70° per $^1/_4$ d'ora, lo lascio alla temperatura dell'ambiente per altre 24 ore e lo riscaldo poi di nuovo a 70° per $^1/_2$ ora. Il liquido è completamente sterile.

Il 2° vien riscaldato, dopo 48 ore di soggiorno nella stufa, per $^1/_2$ ora alla temperatura di 70°. Lo lascio quindi per 24 ore alla temperatura dell'ambiente e poi di nuovo per $^1/_4$ d'ora a 70°. Il liquido è completamente sterile.

Il 3° è riscaldato pure a 70°, dopo 72 ore di soggiorno nella stufa, per $^1/_4$ d'ora. Lo lascio poi per 24 ore alla temperatura dell'ambiente e lo riscaldo di nuovo per $^1/_4$ d'ora a 70°. Il liquido è sterile.

Con queste sostanze pratico le seguenti esperienze di vaccinazione.

Numero dell' animale	Data	Numero del pallone	Quantità del liquido iniettato	Luogo di iniezione
I	20 gennaio	1	1 cmc.	Sotto la cute
	21 »	2	1 cmc.	Idem
	22 »	3	1 cmc.	Idem
II	20 gennaio	1	1 cmc.	Sotto la cute
	21 »	2	1 cmc.	Nella cavità peritoneale
	22 »	3	1 cmc.	Idem
III	22 gennaio	1	1 cmc.	Nella cavità peritoneale
	23 »	2	1 cmc.	Idem
	24 »	2	2 cmc.	Idem
	25 »	3	2 cmc.	Idem

A due giorni di distanza dalle ultime inoculazioni inietto nella cavità peritoneale alle cavie così trattate, una quantità sufficiente di coltura di colera. Esse non ne risentono alcun effetto dannoso, mentre muore la cavia di controllo.

Esperienza II. — Filtro attraverso il filtro di Chamberland una coltura in brodo di 20 giorni di età.

Inietto il liquido in due cavie come appare dalla tabella seguente:

Numero	Data	Quantità del liquido iniettato	Luogo d'iniezione
I	2 febbraio	1 cmc.	Sotto la pelle
	3 »	1 cmc.	Idem
	4 »	1 cmc.	Idem
II	2 febbraio	1 cmc.	Nella cavità peritoneale
	3 »	1 cmc.	Idem
	4 »	2 cmc.	Idem

Dopo due giorni dall'ultima iniezione, le due cavie ricevono nella cavità peritonale una quantità sufficiente di coltura di colera in brodo, e non si ammalano. Il controllo muore.

Esperienza III. — Alla fine di marzo innesto con la solita coltura un pallone di brodo di circa 2 litri di capacità. Questa coltura resta per un mese nel termostato a 37°. La lascio poi alla temperatura dell'ambiente per 5 mesi. Nell'ottobre riprendo la coltura per adoperarla nella esperienza seguente e in altre che descriverò in seguito.

Il liquido è fatto passare attraverso la candela di Chamberland e parte del filtrato viene adoperato come segue:

1° Ne inietto ad una prima cavia, di 450 gr. di peso, $^1/_2$ cmc. sotto la pelle del dorso.

2° Ad un'altra cavia di 425 gr. ne inietto una goccia diluita in 2 cmc. di acqua distillata e sterilizzata.

3° Ad un'altra cavia di 405 gr. inietto un centimetro cubo di soluzione del liquido suddetto, diluito nella proporzione seguente: una goccia in 10 cmc. di acqua distillata e sterilizzata.

Tutte tre le cavie resistono ad una iniezione intraperitoneale di coltura virulenta. Il controllo muore.

Ripetei ancora sopra un'altra cavia l'esperimento numero 3, perchè fu sorprendente che una così piccola dose di prodotti bacterici fosse capace di produrre la immunità.

Serie B. — *Esperienze di immunizzazione col siero di sangue.*

Esperienza IV. — 1° Uccido le cavie che servirono per la esperienza I. n. 2 e 3, dopo 8 giorni dalla iniezione della coltura virulenta, ne raccolgo il siero di sangue e faccio l'estratto acquoso (con sol. al 0,50 $^0/_0$ di ClNa) degli organi principali (fegato, reni, cuore, milza, muscoli).

Dopo 24 ore inietto $^1/_2$ cmc. del siero in una cavia di circa 450 gr. di peso e 5 cmc. dell'estratto acquoso in altra consimile cavia. Dopo altre 24 ore le cavie subiscono l'infezione intraperitoneale: si mostrano completamente immuni.

2° Alle cavie 1 e 2 dell'esperienza II pratico un' altra

iniezione intraperitoneale, onde assicurarmi della loro immunità e rinforzarla.

Ne sperimento poi le proprietà immunizzanti del siero e dei succhi dei tessuti in modo identico a quello sopradescritto. Il resultato della esperienza è positivo.

Esperienza V. — Immunizzo col filtrato di una coltura di colera (come nella esperienza II) tre conigli nel modo seguente:

Coniglio	Data	Quantità del filtrato o della coltura iniettati	Luogo della iniezione	Osservazioni
A	12 febbraio	2 cmc. di filtrato	Sotto la pelle	—
	13 »	Idem	Idem	—
	14 »	Idem	Idem	—
	—	—	—	—
	16 »	3 cmc. di coltura attiva	Nel peritoneo	—
	17 »	—	—	Sta bene; il controllo è morto
B	24 marzo	2 cmc. di filtrato	Sotto la pelle	—
	25 »	Idem	Nella cavità peritoneale	—
	26 »	Idem	Idem	—
	—	—	—	—
	27 »	2 cmc. di coltura attiva	Nella cavità peritoneale	—
	28 »	Idem	Idem	Sta bene; il controllo è morto
	1° aprile	—	—	Sta bene
C	1° aprile	2 cmc. di filtrato	Sotto la pelle	—
	2 »	Idem	Nella cavità peritoneale	—
	3 »	Idem	Idem	—
	—	—	—	—
	6 »	3 cmc. di coltura attiva	Idem	—
	7 »	2 cmc. di coltura attiva	Idem	Sta bene
	8 »	—	—	Sta bene; il controllo è morto

Tolgo il sangue ad ognuno di questi conigli pochi giorni dopo l'ultima iniezione di coltura virulenta. Il siero del sangue, esperimentato sulle cavie, in tutti tre i casi mostra proprietà immunizzanti in modo eguale a quello delle cavie.

Esperienza VI. — 1° Uccido, due giorni dopo un' altra iniezione di coltura virulenta, due delle cavie che avevo immunizzate nei precedenti esperimenti e pongo il siero del loro sangue e l'estratto acquoso dei visceri in due dializzatori piani a larga superficie di pergamena. Dopo 12 ore inietto i liquidi, separati dalla dialisi come segue:

Numero	Peso dell' animale	Quantità	Qualità del liquido iniettato
1	530	2 cm.	Acqua del dializzatore del siero
2	570	2 cm.	Acqua del dializzatore degli estratti
3	550	1 cm.	Residuo del siero
4	570	1 cm.	Residuo degli estratti

Tutte 4 le cavie resistono alla iniezione di una dose mortale di coltura colerica.

Allo scopo di indagare la natura della sostanza immunizzante, capace di dializzare e contenuta nel siero di sangue, feci la esperienza seguente:

Estraggo il sangue, col taglio di vasi del collo, da due cavie perfettamente immunizzate, separo per decantazione il siero e pongo questo in un dializzatore, immerso in un vaso contenente circa 300 gr. di acqua distillata. La temperatura dell' ambiente oscilla tra 10° e 12° gradi. A varie riprese esamino le proprietà chimiche dell'acqua del dializzatore e ne sperimento l' efficacia immunizzante, iniettandola nella cavie nel modo consueto. Ottengo i seguenti resultati.

Tempo della dialisi	Reazioni dell'acqua del dializzatore						Prova di immunizione	
	Ebollizione	Reazione di Millon	Reazione del biureto	Acido fosfowolframico	Saturazione con $SO^4 (AzH^4)^2$	Saturazione con SO^4 Mg	Quantità del liquido iniettato	Resultato
4 ore	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	3 cmc.	Inefficace
8 ore	neg.	inalbamento	neg.	inalbamento	leggero precipitato	neg.	3 cmc.	Efficace
12 ore	neg.	leggero precipitato	neg.	inalbamento	scarso precipitato fiocoso	neg.	2 cmc.	Efficace
24 ore	neg.	precipitato	neg.	inalbamento	scarso precipitato	neg.	2 cmc.	Efficace

Ripetei questa esperienza un' altra volta e vidi sempre che l'acqua del dializzatore mostrava efficacia immunizzante, allorchè comparivano in essa, per quanto in quantità appena apprezzabile, provenienti dal sangue, sostanze che mostravano le reazioni generali delle proteine.

Stante la piccolissima proporzione in cui, con una dialisi non protratta al disopra dei limiti di tempo convenienti, si potevano ottenere queste sostanze immunizzanti, non cercai neppure di ricercarne più oltre la natura chimica. Mi basterà di dire che queste sostanze, mentre non precipitavano nè coll'ebollizione nè per saturazione con solfato di magnesio, non davano la reazione del biureto.

Serie C. — *Tentativi di isolamento delle sostanze immunizzanti contenute nelle colture coleriche.*

Esperienza VII. — Adopero per questa esperienza una coltura del solito bacillo colerico, tenuta per 15 giorni nella stufa a 37°. La quantità è circa 1 litro. La filtro attraverso la candela di Chamberland e mi assicuro che il filtrato sia sterile.

Ottengo un liquido giallo, limpido, di odore nauseante, di reazione decisamente alcalina.

Esso mi dà le reazioni generali delle sostanze proteiche, la reazione del biureto; non dà precipitato per saturazione con solfato di magnesio; non s'intorbida facendolo bollire.

Faccio evaporare questo liquido a 52°, finchè è ridotto alla metà del volume.

1. Una porzione di circa 100 gr. viene precipitata con acetato di Pb. Raccolto il precipitato, esso viene liberato dal piombo con SH^2 e poi fatto attraversare da una corrente di CO^2 per scacciare l'acido solfidrico.

Il liquido ottenuto (circa 50 gr.) dà le reazioni stesse che sopra ho descritto. Ne inietto 2 cmc. in una cavia, e, dopo 48 ore, la infetto con il colera. La cavia non si ammala e il controllo muore.

2. Il filtrato ottenuto viene anch' esso liberato con SH^2 dal sale di piombo restato disciolto, poi da questo gas con CO^2; viene alcalinizzato con carbonato di soda e sperimentato in una cavia. Non ha potere immunizzante.

3. Il resto del liquido, ottenuto come nel n. 1, viene evaporato fino a densità conveniente. Estraggo a varie riprese un alcool assoluto. Il residuo, sciolto in acqua, mostra ancora proprietà immunizzanti; l'estratto alcoolico, liberato dall'alcool per evaporazione e sciolto in acqua, si mostra invece inefficace.

Esperienza VIII.— Tentai poi di separare le varie sostanze, che si trovavano nella stessa coltura colerica, mediante la precipitazione frazionata, seguendo le idee del Limburg [1] su questo metodo di separazione per le sostanze proteiche.

Acidifico leggermente una porzione della coltura precedente con acido acetico e quindi:

1° A 90 gr. di liquido aggiungo 30 gr. di solfato di ammonio, purissimo, finamente polverizzato. Dopo 6 ore (la temp. oscilla tra 14°-16°) filtro, raccolgo il precipitato, lo disciolgo in circa 30 gr. d'acqua, lo dializzo in acqua corrente e lo inietto, in quantità di 3 cmc., in un cavia. Si mostra efficace.

---

(1) Limburg, *Ueber Lösung und Fällung von Eiweisskörpern durch Sälze.* (Zeitschr. f. physiol. Chemie., XIII, pag. 150.)

2° Al residuo aggiungo altri 30 gr. di solfato d'ammonio. Tratto il precipitato come nel caso precedente e lo esperimento sopra una cavia. Si mostra anch'esso efficace.

3° Al residuo aggiungo ancora solfato d'ammonio fino a saturazione completa. Ottengo ancora un leggerissimo precipitato, che, dializzato e sciolto in acqua, viene iniettato tutto quanto in una cavia. È anch'esso efficace.

Esperienza IX. — Altri 100 gr. della stessa coltura vengono evaporati fino ad $1/3$ del volume e, dopo leggera acidificazione, saturati con solfato ammonico. Filtro e dal filtrato cerco di estrarre il peptone, secondo il metodo descritto da Halliburton (1). Dopo il trattamento con acqua di barite e con carbonato di bario, dopo filtrazione ed evaporazione, ottengo, mediante l'alcool assoluto, uno scarso precipitato. Questo precipitato, liberato dall'alcool e sciolto in poca acqua, mi dà la reazione del biureto. Inietto 3 cmc. di questo liquido ad una cavia, ma essa non resiste alla infezione del colera, poichè la trovo morta insieme al controllo. Inietto allora tutta la quantità del liquido che mi era rimasto (circa 8 cmc.) in un'altra cavia e questa resiste all'infezione.

Esperienza X. — Adopero nell'esperienza seguente la coltura già descritta nell'esperienza II, la quale mi aveva mostrato un così forte potere immunizzante.

Prima che fosse filtrata aveva i caratteri seguenti: liquido giallo-scuro torbido; abbondantissimo deposito mugilaginoso; forte odore ammoniacale; energica reazione alcalina. In esso i bacteri sono ancora viventi, poichè, facendone innesti in brodo, si ha uno sviluppo, per quanto poco rigoglioso.

Filtro tutta la coltura per candela di Chamberland. Faccio poi passare sulla candela abbondante soluzione di ClNo (0,5 %) e poi acqua distillata finchè non si ha più traccia di cloro. Raccolgo quindi la sostanza mucilaginosa, restata sulla candela e

(1) Halliburton, *Lehrbuch der chemischen Physiologie und Pathologie.* Heidelberg, Winter, 1892, pag. 149.

la sospendo in acqua distillata. Il filtrato, che, come sopra ho detto, ha fortissime proprietà immunizzanti, viene trattato come segue.

1° Acidifico leggermente con ClH diluito. Ottengo un leggero precipitato, che raccolgo su filtro pesato, e lavo con acqua, alcool ed etere. Asciugo sotto campana con SO^4H^2, peso, e ottengo 2,7 centigr. di sostanza. Sciolgo poi questo precipitato in circa 30 gr. di acqua e ne inietto 1 cmc. in una cavia: essa resiste perfettamente alla infezione procurata nel solito modo. Questo resultato viene confermato da due altre esperienze, eseguite identicamente.

Faccio notare qui, che i filtrati delle colture recenti di colera non dànno precipitato per leggera acidificazione con ClH. La piccola quantità del precipitato raccolto nel caso presente, non mi permise di indagarne le proprietà chimiche. Tuttavia non mi sembra ingiusto pensare che, data la forte reazione alcalina della vecchia coltura, la sostanza precipitata sia quella stessa che, come ora descriverò, si può estrarre dalle cellule bacteriche mediante una soluzione di idrato potassico.

2° L'abbondante deposito della vecchia coltura, che, come sopra ho detto, avevo raccolto su filtro Chamberland e che, dopo lavaggio, avevo sospeso in acqua, vien così ulteriormente trattato. Raccolgo nuovamente su filtro, lavo con alcool ed etere e sospendo la sostanza in una soluzione di soda al 0, 5 °/₀, aggiungendo anche un po' di glicerina. Dopo tre giorni parte della sostanza si è disciolta, dando al liquido un aspetto opalescente. Ne inietto 1 cmc. in due cavie. Ambedue resistono perfettamente alla infezione colerica.

Di questa sostanza volli indagare più da vicino le proprietà. Dopo averla purificata con una nuova precipitazione mediante ClH diluito e dopo averla ridisciolta in una soluzione alcalina, vidi che dava le seguenti reazioni:

— Nessun precipitato per l'ebollizione.

— Con gli acidi precipitato bianco fioccoso.

— Con acido nitrico reazione xantoproteica.

— Con ferrocianuro di potassio nessun precipitato.

— Con cloruro di calcio, previa neutralizzazione e aggiunta di alcool, precipitato bianco.

— Con solfato di rame precipitato grigio-verdastro.

— Con solfato di rame e idrato sodico non si ebbe nè riduzione del sale ramico nè la reazione del biureto, ma un precipitato verdastro e una leggera colorazione azzurra, che aumentò con l'ebollizione fino a diventare azzurro-violetta.

Sopra una piccola porzione della stessa sostanza praticai la ricerca del fosforo, mediante incenerimento con idrato potassico e con la reazione del molibdato ammonico nella soluzione nitrica delle ceneri. La reazione fu positiva.

Ad altra porzione aggiunsi succo gastrico artificiale e lasciai digerire nella stufa. Filtrai e il filtrato mi dètte la reazione del biureto.

Un'altra porzione (30 cmc.) fu, secondo un recente lavoro di O. Hammarsten (1), così trattata.

La divisi in due metà e aggiunsi ad ambedue 10 cmc. di soluzione di acido solforico al 10 %: filtrai subito una prima porzione, mentre l'altra fu riscaldata per un'ora a 99°, quindi filtrai anche questa. Poi neutralizzai ambedue i liquidi con una soluzione di ammoniaca e nitrato d'argento (ammoniaca 10 % p. 30, nitrato d'argento 5 % p. 2). Nella prima porzione non ebbi alcun precipitato, neppure nei giorni successivi alla esperienza, nella seconda invece ottenni un notevole precipitato fioccoso. (Cfr. Kossel (2) e Schindler (3) pag. 432.)

Sulla natura di questa sostanza, che ho ritrovato nel corpo dei bacteri colerici, ecco quanto credo di poter dire.

Come vere nucleine nel significato comune della parola, Liebermann (4), Altmann (5) e Kossel (6) designarono certi composti tra il così detto acido nucleinico e una albumina, indigeribili e di cui carattere specifico sarebbe la proprietà di generare delle basi xantiniche (Kossel). Hammarsten vicino a queste sostanze pone i nucleoproteidi, i quali si differenzierebbero dalle vere nucleine in ciò, che conterrebbero assai più albumina e una parte di questa albumina sarebbe assai facilmente separabile. I nucleoproteidi darebbero per digestione con pepsina, i prodotti dell'albumina digerita e una vera nucleina, la quale, per una più profonda scomposizione, sarebbe poi capace di produrre basi nucleiniche.

---

(1) O. Hammarsten, *Zur Kenntniss der Nucleo-proteïde.* (Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XIX, S. 19.)

(2) Kossel, *Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkerns.* (Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 10, S. 248.)

(3) Schindler, *Beiträge zur Kenntniss des Adenins, Guanins und ihrer Derivate, etc.* (Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. XIII, S. 432.)

(4) Liebermann, *Berichte der chem. deutschen Gesell.*, 1888, Jahr. 21, S. 598.

(5) Altmann, *Ueber Nucleïnsäuren. Arch. f. Anat. u. Phys. — Phys. Abth.*, 1889, S. 524.

(6) Kossel, *Zur Chemie des Zellkerns.* (Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. VII, S. 7) e *Ueber die chemische Zusammensetzung der Zelle.* (Verhandl. d. phys. Ges. zu Berlin, 1895.)

La sostanza isolata dal corpo dei bacteri colerici conteneva fosforo; precipitava per una leggera acidificazione; dopo digestione con pepsina e acido cloridrico, senza che venisse disciolto il precipitato, formatosi per l'acidità del liquido, si rendeva evidente la presenza del peptone; infine dava, per ebollizione in presenza di acido solforico, una base xantinica. Per queste ragioni non mi sembrerebbe infondato considerare questa sostanza come analoga ai nucleoproteidi descritti dall'Hammarsten. (1)

ESPERIENZA XI. — 1° Una metà del filtrato della coltura nominata nell'esperienza precedente viene, dopo neutralizzazione con carbonato sodico, messa ad evaporare fino a consistenza pastosa. Estraggo con alcool rettificato a varie riprese; da una piccola porzione faccio evaporare l'alcool, sciolgo in acqua il residuo (circa 2 centigr.) e lo inietto in una cavia. Essa rimane immunizzata contro il bacillo del colera. Ripeto ancora la prova con resultato positivo.

2° Dopo l'estrazione con alcool, tento la separazione della ptomaine, presumibilmente contenuta nella coltura, col processo Stabs Otto. Faccio ancora digerire la sostanza con alcool rettificato puro, alla temperatura di 55° durante sei ore e aggiungo questo alcool al precedente. Il residuo è posto ancora a digerire con alcool rettificato e acidificato con acido acetico alla temperatura di 35°. Poi evaporo ambedue i liquidi separatamente fino a consistenza siropposa. Aggiungo acqua (circa 20 cmc.) ad ambedue, filtro e, dopo aver diminuito con soda l'acidità del secondo liquido, li mescolo. Posto il liquido in un cilindro di vetro a chiusura esatta, aggiungo due volumi di etere e sbatto fortemente per parecchio tempo, separo l'etere, e ripeto per una seconda volta il processo. Rendo alcalino il liquido con carbonato sodico e lo sbatto per due volte con una miscela di etere e cloroformio (1 : 3) poi con etere solo. Tanto l'etere che servì per la prima estrazione, quanto la miscela di cloroformio ed etere, vengono lavati con acqua distillata e acidificata con qualche goccia di acido solforico. Questo liquido, contenente la ptomaine allo stato di solfati viene poi, previa neutralizzazione

(1) A proposito delle nucleoalbumine quali prodotti bacterici, cfr. GAMALEIA, *Les poisons bactériens*, Paris, Rueff 1892, pag. 89 e seg.

con carbonato sodico, provato sulle cavie. Esso non mostra proprietà immunizzanti e neppure tossiche, almeno nelle dosi esigue in cui io lo usai. Dà però le reazioni delle ptomaine (Halliburton, l. c., pag. 180.)

Serie D. — *Tentativi di isolamento delle sostanze contenute nel siero di sangue degli animali vaccinati.*

Le esperienze di questa serie furono più numerose di quello che anderò descrivendo. Non le riferisco tutte, perchè molte di esse non furono che ripetizioni e controlli.

Esperienza XII. — 1° Adopero per questa esperienza il siero di sangue del coniglio A (esp. V), di cui avevo già esperimentato le proprietà immunizzanti.

Il siero, raccolto in quantità di circa 50 cmc., vien saturato con solfato di magnesio e filtrato. Il precipitato, lavato con soluzione satura dello stesso sale, vien disciolto in poca acqua e dializzato in abbondante acqua distillata, finchè non si ha con aggiunta di Cl^2Ba (previa precipitazione degli albuminoidi con acido nitrico) che un leggero inalbamento.

Esperimento il liquido su due cavie. Ha potere immunizzante.

2° Al filtrato aggiungo solfato di soda a saturazione e filtro alla temperatura di 25°. Il precipitato vien dializzato come sopra ed esperimentato su due cavie. Ha anche esso potere immunizzante.

Esperienza XIII (*di controllo*). — Tratto il siero di un coniglio normale (non immunizzato) in modo identico a quello sopra descritto. Nè il precipitato ottenuto con il solfato di magnesio, nè quello ottenuto per l' aggiunta di solfato di soda, sono capaci di immunizzare le cavie, le quali muoiono, dietro l'infezione col colera, nello stesso tempo che il controllo.

Esperienza XIV. - 1° Riscaldo a 56° per $^1/_4$ d'ora 50 gr. circa di siero limpido di coniglio immunizzato (del coniglio B.)

Il liquido si intorbida leggermente. Filtro ed esperimento il filtrato in due cavie. Esso ha ancora proprietà immunizzanti, ma minori della metà del siero normale.

2° Riscaldo ancora il liquido a 75°. Si forma un grosso coagulo. Il siero rimasto non ha più alcun potere immunizzante.

Esperienza XV. — Ripeto l'esperienza XII con il siero del coniglio C, cercando di ottenere una separazione più delicata che fosse possibile. A tale scopo, dopo aver disciolto il precipitato ottenuto per saturazione del siero con solfato di magnesio, saturo di nuovo con lo stesso sale e, raccolto il precipitato nuovamente formatosi, lo lavo a più riprese con soluzione satura di solfato di magnesio.

Analogamente tratto il precipitato ottenuto per la saturazione con SO^4Na^2, sciogliendolo in poca acqua, saturandolo di nuovo con SO^4Mg., filtrando e saturando ancora con SO^4Na^2.

Ambedue le sostanze (dopo essere state sottoposte alla dialisi) mostrano potere immunizzante.

Esperienza XVI. — Un altro tentativo di separazione della sostanza immunizzante dal siero fu il seguente:

Il siero di un coniglio immunizzato come i precedenti, viene privato delle globuline per saturazione con SO^4Mg quindi:

1° Saturo alla temperatura di 12° il filtrato con SO^4Na^2 e filtro alla stessa temperatura.

2° Pongo il filtrato a 30° e aggiungo poi altro SO^4Na^2. Dopo che il liquido è stato per due ore a 30°, lo lascio raffreddare fino a 12° e di nuovo filtro.

3° Aggiungo ancora al filtrato altro SO^4Na^2, essendo il liquido a 30°, lo lascio per 4 ore a questa temperatura e a questa stessa temperatura lo filtro. Il filtrato non si inalba più con il calore.

Tutti tre i precipitati vengono separatamente disciolti e dializzati e tutti tre mostrano lo stesso potere immunizzante.

Esperienza XVII. — Saturo con solfato ammonico 50 cmc. di siero di coniglio, immunizzato nel modo già descritto, e filtro.

Il precipitato, sciolto in acqua e dializzato, mostra proprietà immunizzanti.

Il filtrato viene lasciato cristallizzare nel vuoto a 37°. Precipito il poco liquido residuale con acqua di bario e poi con carbonato di bario. Concentro di nuovo. Aggiungo qualche goccia di SO^4H^2 diluitissimo e filtro.

Il liquido, iniettato nelle cavie, non mostra proprietà immunizzanti.

Esperienza XVIII. — Volli cercare se anche la fibrina avesse proprietà immunizzanti.

Raccolgo i coaguli formati sbattendo il sangue di due cavie, delle quali avevo esperimentato lo stato di immunità. Pongo a lavare questi coaguli per 24 ore in acqua corrente, poi in acqua distillata.

Quindi, avendoli finamente triturati, ne metto una parte a macerare in una soluzione di ClNa al 5 °/₀ alla temp. di 39° per 2 ore. Inietto 2 cm. del liquido in due cavie e queste si mostrano refrattarie alla infezione colerica.

Un' altra parte la faccio digerire con succo gastrico artificiale. Il liquido ottenuto (che dà la reazione del biureto), alcalinizzato debolmente con carbonato di soda e iniettato nelle cavie, non è capace di produrre immunità.

In tutti i miei tentativi di separazione delle sostanze capaci di immunizzare le cavie contro la peritonite colerica, ho sempre trovato che avevano efficacia vaccinale solo quei liquidi (provenienti dalle colture o dall' organismo di animali immunizzati) che, dopo varie separazioni, mostravano ancora le reazioni generali delle sostanze proteiche.

Dimostrarono infatti un potere immunizzante:

— un nucleoproteide (?) che si trova nel corpo cellulare dei bacilli colerici (esp. X);

— gli albumosi precipitabili dalle colture coleriche, anche recenti, per mezzo della saturazione frazionata con solfato ammonico (esp. VIII);

— probabilmente (per quanto le mie esperienze in propo-

sito abbiamo avuto resultati incerti) anche i peptoni che si trovano nelle stesse colture (esp. IX);

— le sostanze albuminoidi contenute nell'estratto acquoso dei tessuti (esp. IV);

— le globuline, le sierine, la fibrina del sangue degli animali immunizzati (esp. XII, XV, XVIII);

— una sostanza albuminoide indeterminata, dializzabile, che si trova nello stesso siero di sangue (esp. VI);

— tutte le varie sostanze proteiche, che si possono separare dal siero mediante una precipitazione frazionata con solfato magnesico e solfato sodico (esp. XVI).

Al contrario non mostrarono proprietà immunizzanti:

— le sostanze che restano in soluzione nelle colture di colera, dopo la precipitazione con acetato di piombo (esp. VII, 2);

— le sostanze che si possono estrarre dalle colture evaporate con alcool assoluto (esp. VII), con etere e con cloroformio (esp. XI, 2) (ptomaine);

— le sostanze che rimangono in soluzione nel siero dopo averne precipitato i costituenti albuminoidi per saturazione con solfato ammonico (esp. XVII).

Devo inoltre aggiungere, che alcune delle esperienze sopra citate, ed altre che ho tralasciato di descrivere, mi hanno confermato un fatto già molte volte osservato da diversi autori, che cioè le suddette sostanze proteiche possono perdere affatto la loro virtù immunizzante per certe manipolazioni.

Così ad esempio il potere preventivo di una sostanza, prima riconosciuta immunizzante, può scomparire per il riscaldamento sopra 56°, per la precipitazione con i sali dei metalli pesanti (specialmente di Pt. e Hg.) per un soggiorno *troppo prolungato* nelle soluzioni sature di sali neutri o nell'acqua di bario.

Ed ora si presenterebbe una questione di principale importanza, la quale fu già posta da Wesbrook [1] per riguardo ai veleni prodotti dai bacilli colerici stessi. Si tratta di differenti sostanze proteiche, capaci di spiegar tutte lo stesso potere nel-

---

[1] Wesbrook, *Contribution à l'étude des toxines du choléra.* (Ann. de l'Institut Pasteur, 1894, pag. 318.)

l' organismo destinato ad essere vaccinato, oppure è una unica sostanza, difficilmente separabile dalle proteine e che vien trascinata con esse in ogni precipitazione (Duclaux)?

Come Wesbrook non potè rispondere a questa domanda per riguardo alla tesi che si era proposta, così non posso rispondere neppure io per il caso presente.

Tuttavia meno soddisfacente mi sembrerebbe la seconda ipotesi. È certo che le sostanze, capaci di immunizzare contro una data malattia, possono venir prodotte in diverse condizioni, con differentissimi materiali. Così per esempio in un caso (cioè allorchè esse si ritrovano nei liquidi colturali) vengono elaborate, per mezzo delle cellule bacteriche, da differenti materiali nutritizi; in un altro (cioè nel caso delle inoculazioni di prodotti tossici negli animali) si formano dalle sostanze albuminoidi di questi animali, non per opera di cellule bacteriche, ma per un meccanismo sconosciuto, dietro l' introduzione di sostanze che non hanno più alcuna proprietà vitale. Ora sarebbe difficile comprendere, come uno stesso composto potesse venir prodotto in condizioni così differenti.

Mi sembra invece meno strano pensare, che la stessa reazione nell' organismo da immunizzarsi (poichè questo è il fatto fondamentale dell' immunità), possa venir stimolata da sostanze differenti tra loro e prodottesi in vari modi, ma appartenenti tutte al gruppo delle proteine.

Contemporaneamente alle esperienze descritte, ne eseguivo pure altre dirette a rintracciare il meccanismo, con cui nel caso presente s'esplicava il fenomeno dell'immunità. Queste ricerche, benchè numerose, sono ancora incomplete, ed è per tal ragione che non posso riportarle qui con tutti i loro dettagli. Mi basta adesso riferirne, come in una nota preventiva, alcuni resultati, riserbandomi di tornare più tardi sull'argomento.

Le esperienze, di cui sto parlando, avevano per scopo lo studio del potere microbicida ed antitossico di alcune delle sostanze da me estratte e che avevano dimostrato un più forte potere immunizzante.

Ne studiai il potere microbicida in vitro seguendo il metodo delle lastre e giunsi a queste conclusioni:

1° Che il siero di sangue, appena estratto dall'animale vaccinato, mostra un notevole potere microbicida. Questo potere diminuisce progressivamente, aumentando l'intervallo di tempo dal momento dell'estrazione del sangue al momento dell'esperienza. Non però tutti i bacteri muoiono anche nel siero appena estratto, e quelli rimasti viventi si sviluppano più tardi nel siero stesso rigogliosamente.

2° Che nessuna delle altre sostanze isolate, sia dalle colture, sia dal siero, mostra in vitro proprietà bactericide.

Da altra parte, per riguardo alla possibilità di una azione antitossica, ecco quanto mi risultò.

Avevo già osservato che alcuni degli animali immunizzati con differenti sostanze, benchè non si infettassero per ripetute iniezioni di colture virulente, tuttavia, specialmente se queste iniezioni erano state abbondanti, morivano talvolta, dopo 10 o 15 giorni dalla fine dell'esperienza, in preda ad una notevole cachessia. Nei loro reni (dei quali alcuna volta feci l'esame microscopico) riscontrai lesioni di varia natura.

Feci allora una serie di esperienze con il filtrato di una coltura in brodo di un mese di età: questo filtrato era capace di uccidere una cavia alla dose di 5 cmc. Iniettai questo prodotto in cavie, nelle quali avevo già procurato uno stato d'immunità contro il bacterio del colera, mediante alcune delle sostanze sovra descritte. Queste cavie morirono nello stesso tempo che i controlli. Neppure resistettero gli animali, a cui praticai iniezioni di miscele di sostanze immunizzanti (ed anche di siero appena estratto) e di prodotti tossici, nè quelli a cui iniettai prima i prodotti tossici e poi le sostanze immunizzanti.

Da altra parte osservai che, iniettando nel peritoneo a cavie fortemente immunizzate grandi quantità di coltura virulenta, (6-8 cmc.) queste cavie morivano, talvolta assai presto. Alla necroscopia, nè con l'esame misoroscopico, nè mediante la coltura fatta dal leggero essudato peritoneale o dal sangue, *potei mai ritrovare alcun bacillo colerico*, anche se la morte era avvenuta e la necroscopia era stata fatta dopo 12 ore dall'iniezione della coltura.

Questo fatto è di già interessante: in seguito cercherò di ritrovare quale è il minimo periodo di tempo necessario per la distruzione di tutti i bacteri, iniettati nella cavità peritoneale di cavie immunizzate.

Esso tuttavia fino da adesso dimostra (fatto già riscontrato da Pfeiffer), che nel peritoneo delle cavie immunizzate esiste un potere bactericida, che non è affatto congiunto ad un potere antitossico.

È con questo concetto che si possono, secondo me, spiegare i fatti d'immunità da me osservati.

Vale a dire mi sembra che sia giusto concludere, che la immunità contro la peritonite colerica risultante dalla introduzione dei vaccini nel corpo della cavie, non dipenda nè da una azione bactericida diretta di queste sostanze vaccinanti, nè da una *Giftfestigkeit*, nel senso di Ehrlich, la quale possa esser stata acquistata dall'animale in esperimento; ma dal fatto che le diverse sostanze immunizzanti siano capaci di stimolare l' organismo delle cavie (e nel caso presente specialmente gli elementi del peritoneo) ad una azione antibacterica, la quale, poichè nè l'ipotesi umorale, nè l'ipotesi fagocitaria sono sufficienti a spiegare, ci è ancora del tutto sconosciuta, ma che sappiamo indissolubilmente collegata con le attività *vitali* degli elementi dei tessuti.

Firenze, Aprile 1896.

R. Istituto di Studi Superiori in Firenze.
Clinica pediatrica medica diretta dal Prof. G. Mya.

UN CASO DI SETTICEMIA DA BACILLO DEL FRIEDLÄNDER IN UN NEONATO ASSOCIATA A SCLEREMA

(CONTRIBUTO ALLA PATOGENESI DELLO SCLEREMA)

PER IL

DOTT. CARLO COMBA

1° Assistente.

Già fin dal 1854 il Weber suppose che la maggior parte delle forme cliniche raggruppate nella categoria della « Haemophilia neonatorum », non fossero che l' espressione di una infezione generale dell' organismo. Questa ipotesi fu più recentemente sostenuta dal Ritter e dall' Epstein in base ad osservazioni cliniche.

Le prime ricerche batteriologiche furono fatte dal Klebs nel 1875. Questo autore ritiene che la Haemophilia neonatorum sia una malattia infettiva dovuta ad un microrganismo speciale a cui egli diede il nome di *monas haemorrhagicum*, il quale producendo dei trombi nei piccoli vasi provocherebbe le emorragie. È patogeno per il coniglio.

Uguale reperto batteriologico fu descritto due anni dopo dall' Eppinger, allievo del Klebs, in un bambino di 7 giorni morto dopo due giorni di malattia. Il *monas haemorrhagicum* si trovava in gran quantità nel sangue ed in focolai disseminati di broncopolmonite.

Il Weigert in un caso nel quale l'infezione aveva avuto il suo punto di partenza dalla ferita ombelicale, dimostrò la presenza

di *micrococchi* nell'ulcerazione dell'ombelico ed in piccoli focolai broncopneumonici disseminati nei due polmoni.

Il Rehn alla necroscopia di un bambino di tre giorni, morto in seguito ad abbondanti evacuazioni sanguigne, trovò numerose ulcerazioni nella mucosa dello stomaco. Nel fondo di queste ulcerazioni i vasi erano trombizzati e pieni di *micrococchi.*

Il Cervesato in 5 casi di infezione emorragica dei neonati fece delle ricerche batteriologiche, fissando gli organi in alcool e trattando poi le sezioni col metodo del Gram. Egli trovò costantemente nei varii organi, ma più abbondanti nella mucosa esofagea, degli *streptococchi.* Questi microrganismi, che risiedevano per lo più nei vasi sanguigni, secondo l'A. sarebbero la causa dell'infezione emorragica. In base alle sue osservazioni egli ritiene che i batterï abbiano invaso l'organismo, non per la via della pelle e dell'ombelico, che furono trovati sani, ma per la mucosa della faringe e dell'esofago, la quale in questi ed in altri casi non studiati batteriologicamente, si presentava costantemente iperemica, tumefatta e ricoperta da un essudato talvolta fibrinoso.

Il Babes alla necroscopia di un bambino di 5 giorni, morto con sintomi di setticemia, trovò: trombosi dell'arteria ombelicale, infarti emorragici nella milza, broncopolmonite lobulare, ecchimosi sulle sierose. Le culture, fatte dal sangue e dagli organi, dimostrarono la presenza di un *batterio* simile al cocco capsulato della polmonite, che si sviluppa bene sull'agar e sul siero di sangue; non si sviluppa quasi affatto sulla gelatina; è patogeno per la cavia e per il coniglio. Nei focolai di broncopolmonite l'A. trovò pure scarsi *streptococchi.*

Il Baginsky in un bambino morto 16 giorni dopo la nascita trovò arterite ombelicale, broncopolmonite destra, ascessi multipli, emorragie nel rene destro. Dal sangue e dagli organi coltivò lo *streptococco piogeno.*

Il Neumann riferisce 6 casi di setticemia in lattanti, 5 dei quali sifilitici. Il 1°, nato prematuro (7 mesi), morì dopo 14 giorni di vita extrauterina. Alla necroscopia, oltre alle alterazioni sifilitiche si trovò: emorragie nella pelle e nell'intestino, ingrossamento della milza, atelettasia polmonare. Dall'esame batte-

riologico degli organi e del sangue risultò la presenza in essi del *bacillo piocianeo* β. Questo era patogeno per il mus musculus; nella cavia produsse solo un ascesso nel punto d'iniezione. Lo stesso microrganismo fu trovato in un 2° neonato pure sifilitico, morto il giorno dopo la nascita. Il reperto necroscopico era presso a poco uguale a quello del 1° caso: predominavano i fatti emorragici negli organi. Le culture dal sangue del cuore rimasero sterili: invece dagli innesti fatti dalla milza, dal liquido peritoneale, dal fegato si svilupparono accanto ad alcune colonie di *stafilococco p. aureo* numerose colonie di *bacillo piocianeo* β. Secondo l'A. l'infezione sarebbe avvenuta già nella vita intrauterina.

In un 3° bambino sifilitico, morto in seguito ad abbondanti emorragie dal naso e dalla bocca, e nel quale la necroscopia dimostrò emorragie multiple negli organi, l'A. coltivò dal sangue, dalla milza, dal fegato e dai reni lo *stafilococco* e lo *streptococco piogeno.*

In un 4° bambino sifilitico, di 6 settimane, il Neumann trovò nel sangue del cuore, nella milza, nel fegato e nei reni un *bacillo tozzo*, ovale che si coltivava bene sull' agar sotto forma di colonie bianco-grigie, umide, pianeggianti: non fondeva la gelatina.

Nel 5° caso di un bambino sifilitico di sette settimane, coltivò dal sangue, dal fegato, dai reni e dal polmone uno *streptococco.* Inoltre nelle culture del polmone e del fegato si svilupparono delle colonie umide, costituite da un *diplobacillo* le cui estremità si colorivano intensamente coi colori di anilina.

Il 6° caso si riferisce ad un bambino nato a termine da genitori sani, morto in 3ª giornata in seguito ad una infrenabile emorragia intestinale. Alla necroscopia l' A. trovò emorragie puntiformi nei polmoni e nell' esofago, sangue nell' intestino tenue, ed un'ulcera con fondo emorragico nella mucosa del tenue 1 cm. sotto il piloro. Nel fondo dell' ulcera apparivano i vasi trombizzati: fra i trombi e le pareti vasali vi erano dei grossi bacilli, dei diplococchi e degli streptococchi. Dalle culture fatte dal sangue del cuore e dalla milza si sviluppò il *bac. lactis aerogenes.* Questi però secondo l'A. non sarebbe l' agente pato-

geno della malattia: avrebbe invaso l' organismo, penetrando per l' ulcera intestinale, solo nel periodo agonico o dopo la morte.

Il Kischensky in 7 lattanti trovò nel pus della ferita ombelicale, nel sangue e negli organi uno *streptococco*. In tre casi di tetano, manifestatosi nel corso di infiammazione del cordone, trovò nel pus dell'ombelico il *bacillo del tetano* e *streptococchi:* in un caso gli streptococchi si trovavano pure negli organi interni.

Tavel e Quervain in due casi di batterioemia emorragica in neonati, trovarono negli organi degli *stafilococchi* e degli *streptococchi*.

Lubarsch e Tsutsui in un bambino morto 2 giorni dopo la nascita, trovarono epatizzazione del lobo inferiore del polmone sinistro, pleurite fibrinosa dello stesso lato, bronchite bilaterale, nefrite, tumore di milza, degenerazione grassa del fegato. Dal focolaio pneumonico e dalla milza isolarono un microrganismo che identificarono col *bacillus enteritidis del Gärtner*. Questo batterio si osservava in gran quantità nelle sezioni dei vari organi (polmone, milza, fegato, rene, intestino) e si trovava specialmente nel lume dei capillari. Gli A. escludono che l' infezione sia partita dall' intestino o dai vasi ombelicali, che furono trovati sani.

Il Dungern riferisce intorno a ricerche batteriologiche eseguite post-mortem in un neonato non sifilitico. Alla necroscopia fatta 36 ore dopo la morte si notarono: onfalite, emorragie nel cellulare sottocutaneo, nella cavità addominale e nella mucosa intestinale. Soltanto dai residui del cordone ombelicale l'A. fece delle piastre parecchie ore dopo la necroscopia: si sviluppò così abbondante il *proteus vulgaris*, che non fu possibile di isolare con questo mezzo altri batteri. Invece innestando prima il materiale su patate e da queste facendo poi delle piastre, l'A. potè isolare un *bacillo capsulato*, che egli non crede di potere distinguere nettamente dal pneumobacillo del Friedländer, dal bacillo capsulato del Pfeiffer e dal *bacillus canalis capsulatus* del Mori. Questo bacillo è patogeno per il coniglio, nel quale produce emorragie. In base al resultato degli esperimenti sugli animali

l'A. crede di potere ritenere il bacillo capsulato, isolato insieme con altri microrganismi dal cordone ombelicale, come causa della setticemia emorragica nel caso da lui descritto.

Il Fischl in una serie di 14 lattanti, nei quali l'infezione generale si era manifestata specialmente con sintomi di gastroenterite, di bronchite o di broncopolmonite, praticò esami istologici e batteriologici degli organi. In tutti i casi egli trovò, specialmente nel polmone, gli *stafilococchi* e lo *streptococco piogeno:* lo stafilococco p. albo 9 volte solo e 2 volte collo stafilococco p. aureo; lo streptococco piogeno in 3 casi, due volte solo ed una volta associato al bacillus coli comunis. Probabilmente la via d'entrata dell' infezione in questi casi era stato l'apparato respiratorio.

Il Finkelstein in un bambino di 9 giorni, che durante la malattia presentò itterizia, cianosi, gangrena delle estremità, ematuria, fece culture subito dopo la morte dal sangue di una vena, dal cellulare sottocutaneo, dalle parti gangrenate, dal fegato, dalla milza e dai reni. Sulle piastre di agar si sviluppò costantemente uno *streptococco* in cultura pura. L'infezione probabilmente era stata trasmessa al bambino dalla madre, che aveva una infezione puerperale ed allattava.

In un altro bambino di 8 giorni, morto con sintomi di setticemia emorragica, lo stesso A. trovò negli organi un bacillo tozzo, arrotondato alle estremità, che per i suoi caratteri morfologici e culturali e per la sua azione patogena sui topi e sui conigli corrisponde al *bacillus haemorragicus* descritto dal Kolb.

Bar e Rénon in un bambino nato a termine da madre sifilitica, osservarono due giorni dopo la nascita un ittero febbrile che si fece più grave nei giorni seguenti, e produsse la morte in 5ª giornata. Alla necroscopia, fatta due ore dopo l'esito letale, trovarono: fegato aumentato di volume, ricco di sangue e flebite della vena ombelicale che era chiusa da un trombo. Dalla vena ombelicale, dal fegato, dalla milza e dal sangue del cuore ricavarono in cultura pura il *proteus vulgaris.* L'infezione sarebbe partita dalla vena ombelicale.

Queste, per quanto mi consta, sono le principali ricerche che sono state fatte sopra la setticemia dei neonati. Ai casi

ricordati ne aggiungerò ora un altro, che ho potuto recentemente osservare nella Clinica pediatrica di Firenze e che mi parve degno di studio tanto per la forma di setticemia in sè, quanto per la associazione di questa infezione collo sclerema, malattia non frequente del neonato, la cui patogenesi non è ancora bene definita.

Ettore Falc.... di giorni 6, di Firenze. Entra in clinica il 5 febbraio 1896 ad ore 14.

Anamnesi. — Nato alquanto prematuro (mesi 8 1/2). Il travaglio del parto fu lungo (2 giorni) e, per mancanza di ostetrica, il neonato rimase due ore senza che fosse reciso e legato il cordone ombelicale. Appena nato gridò ed il 2° giorno si attaccò bene al petto della madre. In 3ª giornata cominciò a rifiutare il latte ed a farsi fioco. In 4ª giornata i genitori si accorsero che la pelle del bambino aveva un colorito giallognolo e presentava una certa durezza. Afonia, impossibilità di alimentarsi, induramento della cute andarono sempre crescendo, per cui i genitori si decisero a portare il bambino in questa clinica.

Il padre è sano, nega di avere avuto sifilide. La madre ha avuto due mariti, di cui il primo morì per tisi polmonare. Ha partorito 7 volte: la prima bambina morì appena nata perchè prematura (6 mesi), il 2° figlio morì di 10 mesi per polmonite, un 3° di tre anni per bronchite capillare. Altri 3 figli sono viventi e sani. La madre alcuni anni fa fu sottoposta nella Maternità di Firenze ad amputazione del collo dell' utero. Ha sofferto di tosse con qualche spurgo macchiato di sangue ed ora presenta segni di pregressa pleurite sinistra. Del resto il puerperio è normale.

Stato presente. — Il bambino è afono. Pesa gr. 2200. La respirazione è molto superficiale, irregolare e rara; polso impalpabile sulla radiale e sulla crurale. Temperatura rettale alle ore 15, 18, 21 è di 36,4–36,7–36,5 C. La pelle di tutto il corpo è di colorito rosso cianotico: premendo col dito appare evidente un fondo giallo–verdognolo. Gli arti inferiori, permanentemente tenuti in estensione, presentano un induramento scleromatoso tipico (pelle molto tesa, splendente, fredda, dura alla palpazione, premendo col dito non si lascia impronta). Tale induramento si estende fino alla radice delle coscie e si osserva pure intenso nella regione pubica e sulla faccia, sul dorso e sull'addome. Meno intenso negli arti superiori, che il bambino muove discretamente. Il cordone ombelicale è in gran parte distaccato: i margini della futura cicatrice ombelicale sono un poco arrossati. All' esame del torace posteriormente notasi scarsa sonorità: l' ascoltazione non fa rilevare niente di preciso perchè il bambino respira molto superficialmente. Il bambino è alimentato con qualche cucchiaio di latte materno. Muore alle ore 23,30.

Dopo la morte il cadavere fu tenuto nella stanza mortuaria dove la temperatura in quei giorni oscillava di poco intorno ai 0° C.

La necroscopia fatta il giorno 7 febbraio ad ore 10, cioè 34,30 ore dopo la morte, diede il seguente reperto:

Cadavere bene conservato. Colorito itterico della pelle, che sugli arti e sulla faccia si presenta tesa, dura: fatta una incisione si vede uscire colla pressione scarsa quantità di liquido sieroso denso. Questo liquido infiltra pure i muscoli degli arti.

Torace. — I lobi inferiori dei due polmoni sono quasi completamente impermeabili all'aria per focolai confluenti di broncopolmonite: le superfici di taglio sono di colorito rosso scuro, ricche di sangue. La mucosa bronchiale da ambo i lati è arrossata.

Cuore di volume normale. Apparecchi valvolari integri; miocardio di aspetto e di consistenza normale.

Addome. — Fegato di volume presso a poco normale, di colorito giallastro, ricco di sangue per stasi nelle vene sopra-epatiche. Alcune aree di colorito più pallido si notano sulla superficie dell'organo. Milza di colorito roseo uniforme: non sembra aumentata di volume.

I reni sono pallidi e contengono molti infarti urici.

Intestino vuoto e normale. Vasi ombelicali sani.

Reperto istologico. (1) — Subito dopo la necroscopia fissai pezzetti di polmone, pelle, muscolo della coscia, rene, milza e fegato in alcool assoluto e nei liquidi del Flemming e del Foà. Le inclusioni furono fatte in paraffina e colorai le sezioni con carminio alluminato, ematossilina ed eosina, e safranina per i pezzi fissati nel liquido del Flemming.

Polmone. — Nei bronchi l'epitelio per lo più è completamente staccato dalle pareti e si trova nel lume del condotto, mescolato con leucociti polinucleati. In questa massa cellulare si nota una grande quantità di bacilli tozzi, per lo più accoppiati, circondati da una capsula: essi si colorano bene coi metodi del Löffler e del Friedländer, non si colorano col metodo del Gram. Si trovano inoltre scarsi streptococchi. Nella parete bronchiale si osserva una intensa infiltrazione leucocitaria. I vasi bronchiali sono dilatati e pieni di sangue: in alcuni di essi si trovano scarsi bacilli.

I capillari dei setti interalveolari sono enormemente distesi da sangue. Emorragie si osservano numerose nel connettivo dell'organo. Molti alveoli sono unicamente ripieni da globuli rossi, altri da globuli rossi e da leucociti ed un buon numero prevalentemente da leucoctiti e da cellule alveolari staccate dalle pareti. In questi ultimi alveoli si trovano abbondanti i bacilli già descritti. Trattando le sezioni col metodo del Weigert non fu possibile dimostrare la presenza di fibrina.

Rene. — Le più gravi alterazioni si trovano nei tubuli contorti e nelle

---

(1) Nelle ricerche istologiche fui efficacemente coadiuvato dal sig. Moldenhauer, allievo della Clinica, che ringrazio vivamente.

anse di Henle. Le cellule epiteliali sono rigonfiate; nella maggior parte di esse il nucleo è scomparso o difficilmente colorabile; nel protoplasma si osserva una intensa degenerazione grassa. Meno intensa è questa degenerazione negli epitelii dei tubuli collettori. In alcuni glomeruli fra la parete della capsula e le anse dei capillari vi sono degli accumuli di una sostanza finamente granulosa, che si tinge bene coll'eosina. In molti glomeruli si nota una lieve degenerazione grassa dell'epitelio di rivestimento. I capillari glomerulari e gli altri vasi delle sostanza corticale sono distesi da sangue. Non si osserva infiltrazione leucocitaria nel connettivo dell'organo.

Fegato. — Struttura parzialmente embrionale. Le cellule epatiche sono rigonfiate, alcune sono degenerate in grasso ed hanno perduto il nucleo. Nel protoplasma della maggior parte degli epitelii, si notano numerosi granuli tinti in giallo, ammassati nella sezione della cellula che guarda la radice dei canalicoli biliari; precisamente come si osserva nei casi di ittero emolitico. I capillari e le vene sono distesi da sangue.

Milza. — Follicoli Malpighiani tumefatti. Nello stroma dell'organo si osservano molti globuli rossi in parte bene conservati, in gran parte deformi e frammentati: si vedono pure dei globuli rossi nucleati. Alcuni leucociti dello stroma e dei follicoli sono degenerati in grasso.

Pelle della coscia. — Le fibre del connettivo sottocutaneo sono rigonfiate ed hanno un aspetto torbido. In varî punti, specialmente nella zona limitante col tessuto adiposo, esse formano delle larghe maglie, che racchiudono degli spazî ripieni di una sostanza finamente granulosa, che si tinge bene coll'eosina: tali accumuli si osservano pure in alcuni lobuli di grasso. Il tessuto adiposo in generale è bene conservato. I capillari e le piccole vene sono enormemente distesi da sangue. Non si trovano segni di infiammazione nelle pareti vasali e nel connettivo interstiziale.

Muscolo della coscia. — Le fibre muscolari in generale sono bene conservate; solo in alcune di esse non è bene evidente la striatura trasversale. I fasci muscolari sono divaricati per infiltrazione nel connettivo interstiziale di una sostanza finamente granulosa, simile a quella osservata nel tessuto cellulare sottocutaneo. Non si osservano segni di infiammazione.

RICERCHE BATTERIOLOGICHE. — Ho fatto delle culture dal sangue e dal polmone; esami di sezioni di varii organi (polmone, reni, fegato, milza, pelle, muscoli della coscia), colorate secondo i metodi del Löffler, del Friedländer e del Gram; ed esperimenti sugli animali.

Le *culture dal sangue* furono eseguite 8 ore dopo la morte. Disinfettata accuratamente la regione precordiale, ho aspirato dal cuore con una siringa metallica sterilizzata alcuni cm³ di sangue, col quale seminai generosamente dei tubi di brodo, di siero di maiale e di agar glicerinato solidificato a becco di flauto. Dopo 24 ore notai sulla superficie dell'agar glicerinato e del siero numerose colonie bianche, splendenti, grosse circa

2 volte come un capo di spillo, in alcuni punti confluenti. Esse erano costituite da bacilli per lo più tozzi, arrotondati alle estremità, spesso accoppiati e circondati da una capsula, che si metteva bene in evidenza colla colorazione del Ribbert. Questi microrganismi erano immobili, si colorivano bene coi comuni colori di anilina, si scolorivano coi metodi del Gram e dello Ziehl. Il brodo si era uniformemente intorbidato; la cultura era costituita dallo stesso bacillo capsulato, sviluppatosi sull'agar glicerinato e sul siero.

Furono fatti dei trapianti su agar, agar glicerinato, siero di sangue, gelatina, patate e brodo.

Sulla superficie inclinata dell'agar e dell'agar glicerinato si ha uno sviluppo rigoglioso con formazione di una patina bianco-grigiastra, splendente, vischiosa, la quale, dopo 2-3 giorni di permanenza delle culture nel termostato a 37°, invade gran parte della superficie e raggiunge l'acqua di condensazione. Il microorganismo su questi mezzi nutritizi conserva per lo più la forma, le dimensioni e la colorabilità osservate nelle culture originarie. È notevole il fatto, che generalmente dopo il 2° trapianto, sempre dopo il 3° od il 4°, in esso non si può più dimostrare la capsula. Inoltre specialmente nelle culture un po' vecchie accanto alle forme ordinarie, che hanno la lunghezza di 1,4 a 5,6 μ, si notano più rari dei filamenti lunghi fino a 8-20-30 μ. — Non si osserva sviluppo di gas e le culture non hanno odore speciale.

Sul siero di sangue coagulato si ha uno sviluppo simile a quello descritto per l'agar e l'agar glicerinato; solo è un po' meno rigoglioso.

Nelle culture per infissione in gelatina al 10 %, tenute a 16-20° C, si nota sulla superficie lo sviluppo di una patina biancastra rilevata, che si continua in profondità con una stria pure biancastra: la cultura nel suo insieme ha l'aspetto di chiodo. La gelatina non fonde e nel suo interno non si osservano disseminazioni e sviluppo di bolle di gas.

Sulle patate la cultura ha un colorito giallo brunastro al centro, bianco grigio alla periferia: non tramanda alcun odore speciale.

Il brodo dopo 24 ore è uniformemente intorbidato: dopo alcuni giorni si raccoglie nel fondo un deposito abbondante, bianco, fiocconoso. Soltanto nelle culture vecchie si nota una sottile pellicola sulla superficie del liquido.

In questi ultimi mezzi di cultura il batterio ha caratteri morfologici uguali a quelli descritti per l'agar: sulla patata soltanto notai che erano un poco più numerose le forme lunghe.

Le *culture dal polmone* furono fatte subito dopo la necroscopia con tutte le cautele d'uso per evitare possibili inquinamenti dall'esterno. Il materiale d'innesto fu diluito, secondo il metodo proposto dal Banti, (1) nell'acqua di condensazione di alcuni tubi di agar glicerinato, la quale

(1) Banti. *Eine einfache Methode die Bakterien auf dem Agar und Blutserum zu isolieren.* (Centralbl. f. Bakter. u. Parasitenk., 1895.)

poi facevo scorrere sulla superficie del mezzo di cultura. Dopo 24 ore ottenni uno sviluppo molto abbondante di colonie bianco-grigiastre splendenti, rilevate, vischiose, costituite da un batterio, che per la morfologia e le sue proprietà di colorazione e culturali identificai col bacillo capsulato coltivato dal sangue. Si svilupparono inoltre scarse colonie, piccole, grigie, formate da uno streptococco, che per i caratteri di colorazione e di cultura corrisponde allo streptococco piogeno.

Nelle sezioni della pelle, dei muscoli, della milza, del fegato e del rene, trattate coi metodi indicati non trovai microrganismi. Nel polmone invece ho già detto come fossero abbondantissime le forme bacillari nell'interno dei bronchi e degli alveoli, e rari gli streptococchi.

Esperimenti sugli animali. — Ad un robusto coniglio (gr. 2500) iniettai sotto la pelle del dorso 1 cm^3 di cultura in brodo del bacillo isolato dal sangue. L'animale non mostrò segni di sofferenza ed era vivo 2 mesi dopo l'iniezione.

Uguale risultato negativo ottenni colla iniezione di 1 cm^3 di cultura in brodo nel cellulare sottocutaneo di 2 cavie adulte del peso di gr. 740 e 690. Invece l'iniezione di $^1/_2$ cm^3 di cultura nella cavità peritonale di una grossa cavia (gr. 700) produsse la morte dell'animale dopo 19 ore. Alla necroscopia trovai: addome tumido, la cavità peritonale non conteneva gas; il peritoneo parietale e quello viscerale arrossati, scarsa quantità di liquido torbiccio nella cavità peritoneale. Sulla superficie del fegato e delle anse intestinali alcuni stracci di essudato fibrino-purulento. Milza lievemente aumentata di volume, di colorito rosso scuro. Stasi nel fegato e nei reni, capsule surrenali iperemiche. Niente di notevole nei polmoni. Cavità cardiache ripiene di sangue nerastro col quale feci una cultura per strisciamento su agar glicerinato. Dopo 24 ore si osservava lo sviluppo di una diecina di colonie costituite dal microrganismo già descritto.

A due topolini bianchi (mus musculus) iniettai sotto la pelle del dorso 1/2 cm^3 di cultura in brodo. Uno solo morì dopo 3 giorni, ed alla necroscopia notavasi: essudato purulento denso e lieve edema nel punto di inoculazione: abbondante liquido sanguinolento nella cavità addominale: milza aumentata di volume: niente di speciale negli altri organi. L'essudato del punto d'inoculazione conteneva numerosi bacilli tozzi capsulati, per lo più accoppiati. Più scarsi essi si trovavano nel succo splenico e nel sangue del cuore. Le culture dal sangue su agar glicerinato riuscirono positive.

Ad un altro topolino bianco l'iniezione (3 mm^3) fu fatta nella cavità peritoneale. L'animale morì in meno di 16 ore. Si trovò: iperemia del peritoneo; scarso liquido torbiccio nella cavità addominale; milza aumentata di volume, di colorito feccia di vino; niente di notevole negli organi toracici. Il sangue del cuore conteneva numerosissimi bacilli capsulati, che sull'agar glicerinato davano uno sviluppo rigoglioso di colonie uguali a quelle del bacillo iniettato.

Un grosso topo bianco (mus rattus) non si risentì affatto dell'iniezione sottocutanea di 1 cm^3 di una cultura in brodo.

I caratteri morfologici, culturali, l'azione patogena sugli animali di questo microrganismo corrispondono a quelli descritti per il *bacillo del Friedländer*. Il batterio da me studiato però differisce dal tipo genuino del bacillo del Friedländer unicamente per il fatto, che conserva la capsula nei primi trapianti delle culture; ma a questo carattere non ho creduto di dovere dare una soverchia importanza.

L'osservazione che ho riferita porta un contributo allo studio dell'azione patogena nell'uomo del bacillo del Friedländer. Questo è stato riconosciuto come agente patogeno di svariati processi morbosi: di stomatite aftosa (Bernabei), di parotiti (Etienne), di otiti (Bordoni-Uffreduzzi e Gradenigo, Netter, Zaufall, Weichselbaum, ecc.), di bronchiti (Marfan, Silvestrini), di bronco-polmoniti (Friedländer, Marfan, Galvagni, Pipping, Weichselbaum, Queisner, Neumann, Mosny, Netter, Bonardi), di pleuriti purulente (Netter, Letulle, Würtz, Wolf), di pericarditi (Netter, Paviot, Haushalter e Etienne, ecc.), di endocarditi (Weichselbaum), di angiocoliti (Netter, Etienne), di pielonefriti (Dungern), di meningiti (Friedländer, Weichselbaum, Netter, Foà e Rattone, Babes, Etienne), di poliorromeniti (Bonardi), di setticemie e piemie (Weichselbaum, Dungern?, Etienne, Bonardi, Brunner). Noto il fatto, che nei bambini non sono stati fino ad ora descritti con certezza casi di setticemia da bacillo del Friedländer.

***

Ed ora mi proverò a ricostruire la fisiopatologia della malattia di cui fu vittima il bambino Falc...: prima però è necessario che faccia alcune considerazioni sul sintomo, che più degli altri ci colpì e che da solo motivò l'accettazione del bambino nella clinica; intendo parlare dello *sclerema*. Sotto questo nome (*scleroedema*, Soltmann) viene descritta una malattia rara del neonato, la quale, secondo gli autori più moderni (Clementovsky, Soltmann, Baginsky, Runge), è caratterizzata da una raccolta di liquido sieroso nel cellulare sottocutaneo. Questa raccolta produce un sollevamento e una distensione, talvolta molto forte

della pelle, che si presenta allora splendente, dura alla palpazione: il dito che palpa non lascia impronta. La infiltrazione sierosa del cellulare sottocutaneo, che comincia per lo più dagli arti inferiori, facendosi molto intensa e generale produce una certa rigidità ed immobilità delle parti colpite: la pelle è fredda. Questo edema è passivo: secondo gli autori già citati non esistono alterazioni infiammatorie nella pelle. Il trasudato riempie il cellulare sottocutaneo, che è iperemico, e si estende spesso nel connettivo dei muscoli sottostanti. Negli organi interni si osserva per lo più atelettasia polmonare, edema della pia meninge, piccole emorragie: in alcuni casi si sarebbe notato un principio di nefrite. La malattia predilige i neonati prematuri di costituzione gracile, mal nutriti. Come complicazioni più importanti furono segnalate dagli autori la broncopolmonite, le infezioni settiche del cordone, il penfigo.

Le cause dello sclerema non sono bene definite: furono invocati come fattori etiologici il freddo umido, anormalità di funzione del cuore, processi di miocardite, principii di nefrite, una incompleta espansione dei polmoni (Bailly, Legendre, West, Ritter ecc.), l'atrepsia (Parrot). Il Soltmann ammette una morbosa disposizione delle pareti dei vasi cutanei. Il Baginsky suppone l'esistenza di un agente infettivo, il quale, favorito da una deficiente energia della respirazione e del ricambio materiale in generale, produrrebbe delle alterazioni nelle pareti dei piccoli vasi sanguigni della pelle. Non mi consta però che siano state fatte delle ricerche batteriologiche in casi di sclerema, eccetto che dall'Aufrecht, il quale recentemente in un caso di sclerema complicato da atrofia acuta del fegato coltivò da questo organo il *bacillus coli comunis*.

Dallo sclerema gli autori distinguono quegli edemi parziali che spesso si osservano nei bambini delicati. Essi hanno sede intorno alle articolazioni, sulle mani, sullo scroto e dipendono per lo più da disturbi della circolazione. Secondo il Ballantyne la distinzione avrebbe una base anatomica. Nello sclerema si osserverebbe ipertrofia ed iperplasia del connettivo sottocutaneo ed atrofia del tessuto adiposo: nell'edema infiltrazione di liquido sieroso nelle maglie del connettivo sottocutaneo, le

cui fibre sarebbero assotigliate e divaricate, ed atrofia delle cellule adipose.

Dalla breve rassegna che ho fatto risulta chiaramente, che il quadro clinico ed anatomo-patologico del mio caso corrispondono perfettamente a quelli descritti dal Soltmann e dal Runge per lo scleroedema.

Ciò posto vediamo quale nesso corra fra i sintomi sopraesposti, quale sia la fisiopatologia del caso che fu soggetto di questo studio.

Quale fu la porta d'ingresso dell'infezione? Il punto di partenza delle infezioni dei neonati per lo più si trova in una infiammazione del cordone ombelicale: a questo processo infiammatorio partecipano generalmente la vena e le arterie ombelicali, si formano in esse dei trombi micotici dai quali si staccano dei frammenti, che portati nella circolazione generale producono una setticemia. Nel caso del Falc... non furono osservate alterazioni dei vasi ombelicali: ma questo fatto solo non sarebbe sufficiente per escludere la possibilità dell'infezione per la via ombelicale. Alcuni autori infatti ammettono, che i germi infettivi possano per questa od altre vie invadere l'organismo, senza che si trovino al tavolo anatomico alterazioni vasali (Runge, Cervesato). Altri argomenti invece si possono invocare per ammettere che la setticemia non sia partita dall'ombelico; e questi argomenti me li fornisce lo studio anatomo-patologico degli organi.

La bronchite intensa e diffusa dai grossi ai piccoli bronchi, la forma di broncopolmonite pseudolobare bilaterale, l'abbondanza dei microrganismi nei bronchi, dimostrano chiaramente che in questo caso la broncopolmonite non era secondaria alla setticemia. Mi pare invece che sia logico ammettere, che il processo morboso sia cominciato con una forma di grave broncopolmonite da bacillo del Friedländer: dai focolai flogistici del polmone poi facilmente i microrganismi si sarebbero fatto strada nei vasi sanguigni dell'organo, ed invadendo così la massa sanguigna avrebbero prodotto la setticemia. Mi si potrebbe obbiettare che in questo caso, essendo state fatte le culture 8 ore dopo la morte, si potrebbe trattare non di una vera setti-

cemia, ma piuttosto di una batterioemia post-mortale. Io ritengo che realmente setticemia ci fosse in vita, perchè dal sangue del cuore di un cadavere tenuto in un ambiente in cui la temperatura oscilla di poco intorno a 0° C, anche dopo 8 ore dalla morte non si ottengono delle culture così rigogliose come quelle, che ho ottenuto nel caso del Falc.... Mi conforta poi in questa opinione l'osservazione di molti altri casi di broncopolmonite di bambini, nei quali, fatte culture dal sangue del cuore in condizioni identiche 8-12 ore dopo la morte, non ottenni nessuno sviluppo.

Conseguenze della infezione poi furono una forte emolisi, le alterazioni del fegato e dei reni, e forse, soltanto indirettamente, lo sclerema.

Una forte emolisi è un fatto fisiologico nei primi giorni della vita; io ritengo però che in questo caso essa sia stata esagerata dalla infezione. Questa osservazione è fondata sul reperto istologico della milza, nella quale si trovava un gran numero di globuli rossi alterati.

Conseguenza di questa emolisi fu la produzione di una maggiore quantità di bile, come risulta in modo evidente dall'esame istologico del fegato. Il riassorbimento di una parte di questa bile determinò l'itterizia intensa, osservata anche in vita nel bambino.

Un organo che ha risentito molto gli effetti dell'infezione è stato il rene. In esso, come risulta dal reperto anatomo-patologico macro e microscopico, vi erano i segni di una nefrite acuta, grave per la diffusione e per la intensità. Tutti i tubuli della parte secernente erano lesi, come pure una buona parte dei glomeruli. Con tali alterazioni la funzionalità dell'organo doveva essere profondamente modificata.

Questa insufficienza renale credo che in questo caso sia il fattore patogenetico principale da invocare per la spiegazione dello sclerema. È razionale infatti ammettere, che in conseguenza della deficienza funzionale del rene si sia prodotto un edema generale del connettivo sottocutaneo, il quale, per condizioni non ancora bene definite, nel neonato acquista quella durezza speciale, che fece dare a questo sintomo il nome di sclerema.

La produzione dell' edema generale acuto sarà stata pure favorita dalla debolezza della circolazione, che si era manifestata specialmente nell' ultimo giorno della vita e che era evidente alla necroscopia per la stasi generale negli organi.

Probabilmente poi sono da considerare come cause predisponenti del processo infettivo e dello sclerema, il prolungato travaglio del parto, che non fu assistito da una persona dell'arte, la nascita prematura, la stagione fredda.

Si potrebbe inoltre supporre, secondo l'ipotesi del Baginsky, che il processo infettivo abbia pure influito direttamente sulla produzione dello sclerema, determinando delle fini alterazioni delle pareti vasali. Su questo punto però non potrei dare un giudizio sicuro. Mi basti per ora di constatare il fatto, che ho potuto osservare uno sclerema tipico in un caso di setticemia da bacillo del Friedländer, secondaria a broncopolmonite e complicata da grave nefrite.

Aprile, 1896.

BIBLIOGRAFIA

Setticemia dei neonati.

1. BABES, Bakteriologische Untersuschungen über septische Prozesse des Kindesalters. Leipzig, 1889.
2. BAGINSKY, Zwei Fälle von Pyämie bei Säuglingen. (Virchow's Archiv, Bd. CXV, 1889.)
3. BAR et RÉNON, Ictère grave chez un nouveau-né atteint de syphilis hépatique, paraissant dû au Proteus vulgaris. (Soc. de Biologie, Paris, 18 mai 1895.)
4. CERVESATO, Contribuzione allo studio delle infezioni emorragiche dei neonati. Padova, 1889.
5. DUNGERN, Ein Fall von hämorrhagischer Sepsis beim Neugeborenem. (Centralbl. f. Bakter. u. Parasitenk., Bd. XIV, 1893.)
6. EPPINGER, Beiträge zu den mykotischen Erkrankungen. Haemophilia neonatorum. (Prager med. Wochenschr., 1877.)
7. EPSTEIN, Oesterreich. Jahrb. f. Pädiatr., 1876.
8. FINKELSTEIN, Zur Kenntnis seltener Erkrankungen der Neugeborenen. (Berl. klin. Wochenschr., 1895.)
9. FISCHL, Ueber septische Infektion des Säuglings mit gastrointestinalen resp. pulmonalen Symptomen. (Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. XVI, H. 1, 1894.)
10. KISCHENSKY, Ueber die Aetiologie des Tetanus und seine Beziehung zur Septikämie der Säuglinge. (Medizinskoje Obosrenie, 1888, n. 18. — Ref. in Centralbl. f. Bakter., 1890, Bd. VII.)
11. KLEBS, Beiträge zur Kenntnis der pathogenen Schizomyceten. (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., IV, 1875.)
12. LUBARSCH und TSUTSUI, Ein Fall septischer Pneumonie beim Neugeborenen, verursacht durch den Bacillus enteritidis (Gärtner). (Virch. Arch., Bd. CXXIII.)
13. NEUMANN, Fall von Melaena neonatorum mit Bemerkungen über hämorrhagische Diathese Neugeborener. (Archiv f. Kinderheilkunde, Bd. XII, 1890.)

14. —— Weiterer Beitrag zur Kenntnis der hämorrhagischen Diathese Neugeborener. (Archiv. f. Kinderheilk., Bd. XIII, 1891.)
15. Rehn, Zur Genese d. Melaena neonatorum. (Centralzeitung f. Kinderheilkunde, 1877-78.)
16. Ritter, Oesterreich. Jahrb. f. Pädiatr., 1871, Bd. II. — Prager med. Wochenschr., 1877.
17. Tavel und Quervain, Zwei Fälle von hämorrhagischer Bakteriämie des Neugeborenen. (Centralbl. f. Bakter. u. Parasitenk., Bd. XII, 1892.)
18. Weber, Beiträge zur pathologischen Anatomie der Neugeborenen. Kiel, 1854.
19. Weigert, Ueber eine Mykose bei einem neugeborenen Kinde. (53 Jahresber. d. schlesischen Gesellschaft. f. vaterländ. Kultur, 1875.)

Sclerema.

1. Aufrecht, Akute Leberatrophie bei Sclerema neonatorum. (Centralbl. f. innere Med., n. 11, 1896.)
2. Baginsky, Lehrbuch. d. Kinderkrankeiten, 1892.
3. Ballantyne, Remarks on sclerema and oedema neonatorum. (British med. journal, 1890, 22 Febr.)
4. Clementovsky, Oesterr. Jahrbuch. f. Pädiatr., Bd. I, 1873.
5. Namiàs, Su alcuni casi di sclerema dei neonati. (Annali di ostetricia, ginecologia e pediatria, 1884.)
6. Parrot, Clinique des nouveau-nés. L'athrepsie, 1877.
7. Soltmann, Ueber Sclerema neonatorum (Sklerödem der Neugeborenen). (Eulemburg's Real-Encyclopädie der gesammten Heilkunde, 1889.— Ref. in Archiv f. Kinderheilk., Bd. XIV, H. 1 e 2, 1891.)
8. Runge, Die Krankheiten der ersten Lebenstage. Stuttgart, 1893. — Contiene numerose indicazioni bibliografiche sullo sclerema.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

Istituto di Anatomia patologica di Firenze. Direttore Prof. G. Banti.

NUOVE RICERCHE SULLA PRESUNTA "PSITTACOSI„

PEL

DOTT. F. MALENCHINI

1° Aiuto.

Nello *Sperimentale* del 1895 (fascicolo II, sezione Biologica) pubblicai i risultati di alcune ricerche da me eseguite in questo Istituto di Anatomia Patologica sopra una epidemia di pneumoniti, che per la loro estrema gravità credei di poter chiamare maligne.

Queste pneumoniti differivano dalla forma fibrinosa ordinaria per il decorso clinico, per il reperto anatomo-patologico, per il fatto di presentarsi a focolai sparsi nella città, attaccando spesso contemporaneamente intere famiglie.

Accennai nel mio lavoro ad una tra le tante supposizioni, che si fecero allora in Firenze, per spiegare l'origine di sì strana infezione, voglio dire alla ipotesi che essa potesse essere stata trasmessa da pappagalli provenienti dall'America. Giudicai anzi tale supposizione la più verosimile non tanto perchè realmente potè più volte esser dimostrata in modo sicuro la coincidenza tra la malattia o la morte di un pappagallo e l'insorgere della infezione nella famiglia che lo possedeva, quanto perchè già si conoscevano altri casi pubblicati in Francia di infezioni con localizzazioni polmonari determinate da questi animali.

Nei casi da me studiati ottenni colle ricerche batteriologiche un microrganismo, il quale presentava caratteri tali da doversi indubbiamente considerare come una delle varietà del diplococco lanceolato capsulato del Fränkel.

Trovai questo microrganismo il più spesso unico, talora invece associato ad altre specie batteriche variabili nei diversi casi, e ciò mi accadde quando i cadaveri erano in stato di avanzata putrefazione, quando cioè v'era ragione di ammettere una invasione postmortale.

Nel Policlinico (anno 1895, n. 22), il dott. Torquato Palamidessi, aiuto alla Cattedra di Igiene nell'Istituto di Studi Superiori di Firenze, pubblicò i risultati di ricerche batteriologiche da lui praticate in una infezione, che colpì quasi contemporaneamente negli ultimi giorni di ottobre del 1894 tutta la famiglia C., e che egli ritenne potesse essere stata trasmessa dai pappagalli.

Debbo dichiarar subito che i casi della famiglia C. sono nel numero di quelli da me studiati, che anzi essi furono i primi, ai quali poi se ne aggiunsero varii altri, che ebbi modo di osservare in cadaveri provenienti dall'Ospedale di Santa Maria Nuova.

Aggiungerò che in uno di questi capitatomi all'autopsia quasi contemporaneamente a quelli della famiglia C., con diagnosi dubbia di tifo, risultò in modo evidentissimo dalla storia che l'individuo era stato colpito dalla infezione insieme con altre persone della famiglia pochi giorni dopo la morte di un pappagallo, che da breve tempo era arrivato da Genova, e che dalla famiglia stessa era stato comperato.

A tal caso ho ragione di annettere una speciale importanza, non tanto per la sua perfetta somiglianza con quelli C., quanto perchè mentre in essi non potei ottenere direttamente dal cadavere culture pure a causa della putrefazione avanzata in cui si trovavano, in questo invece riuscii ad avere dal polmone e dal sangue il diplococco in cultura pura.

La medesima infezione fu adunque studiata dal Palamidessi e da me: i risultati però che dalle nostre ricerche abbiamo ottenuto sono in pieno disaccordo.

Il Palamidessi infatti annunzia di avere trovato come agente patogeno della infezione un diplococco, che ritenuto da lui nei primi momenti per quello del Fränkel, mostrò poi caratteri tali da doverlo differenziare da esso, come ad esempio quello di crescer bene in gelatina a 20°-22°, di scolorarsi col

metodo del Gram, di aver potere patogeno oltrechè per il coniglio e per il topo, anche per il pollo e per altri animali, che rimangono indifferenti all' azione del diplococco pneumonico. « Questo batterio studiato nelle goccie pendenti si presenta dotato di un movimento attivissimo di oscillazione, però i movimenti di traslazione, *se si compiono*, sono molto limitati. » Per il complesso dei caratteri biologici il Palamidessi ha creduto tale microrganismo o identico o molto simile al batterio del colera dei polli del Pasteur.

Si presenta perciò una questione riguardo al valore da attribuirsi a questo batterio in confronto del diplococco da me trovato: ma prima di entrare in discussioni credo opportuno di fermarmi alquanto sul nome di diplococco, che al Palamidessi è piaciuto di dare al suo microrganismo.

Perchè infatti chiamare diplococco un batterio che egli stesso ci dice tanto rassomigliare a quello del colera dei polli da poter venire con esso confuso?

E quasi ciò non bastasse, questo diplococco così rassomigliante al bacillo del Pasteur vuole ad ogni costo il Palamidessi ritenere identico ad un batterio che il Nocard scoprì nelle ali di pappagalli morti da lungo tempo, e che vien descritto come un batterio corto, tozzo, ad estremità arrotondate, senza che mai nemmeno lontanamente venga rammentata la forma di cocco e tanto meno la disposizione a diplococco, batterio che essendo *estremamente mobile* sembra differire dal suo anche in questo carattere.

Senza insistere oltre su questa improprietà di nome, e ritornando al nodo della questione, cui accennavo poco fa, io credo che a portarvi luce sia innanzi tutto opportuno di mettere in evidenza i mezzi con cui io ed il Palamidessi riuscimmo ad isolare i nostri microrganismi.

Io potei dimostrare costantemente collo esame microscopico e con le culture sia nel sangue, sia nei focolai pneumonici dei cadaveri la presenza di un diplococco che aveva tutte quante le apparenze di quello del Fränkel. Se nei casi C. per lo stato di avanzata putrefazione, in cui si trovavano i cadaveri al momento della autopsia, non potei ottenere culture pure di

pneumococco, nel caso, su cui dianzi espressamente ho insistito, e in quasi tutti gli altri ciò mi fu possibile. Però sempre, anche nei casi C., la inoculazione nei topi e spesso anche quella nei conigli tanto del sangue quanto del polmone alterato, mi dettero come risultato costante la morte dell'animale e la presenza nel suo sangue del diplococco del Fränkel, che fu poi facile ottenere in cultura pura.

Quando insieme col diplococco nacquero nelle culture fatte dal cadavere altri batteri, questi dimostrarono colla loro variabilità nei diversi casi di essere accidentali e dovuti ad invasioni postmortali. Posso ad ogni modo assicurare che tra questi non si trovò mai il batterio del Palamidessi; e tale assicurazione non si fonda soltanto sui risultati delle culture, ma anche sopra esperimenti, che nel mio primo lavoro ritenni inutile di render noti, ma che ora, dopo la memoria del Palamidessi, acquistano un valore grandissimo.

Essendosi al momento in cui feci l'autopsia dei C. sparsa la voce che la infezione potesse essere stata trasmessa dai pappagalli, volli oltrechè sui topi e sui conigli esperimentare anche sul pollo, ed inoculai nel secondo caso C. sangue e polmone tolti dal cadavere sotto la pelle di un gallo, nel terzo caso C. feci mangiare ad un altro gallo frammenti di polmone alterato.

Questi due polli vissero per tre mesi circa in perfetta salute, ma poi morirono quasi contemporaneamente presentando nel loro sangue una quantità grandissima di bacilli molto simili a quelli del Palamidessi. È necessario però che io dichiari come il giorno innanzi avessi loro inoculato il sangue di un altro gallo, che mi era stato spedito cadavere da un paese vicino, ove infieriva una terribile epidemia di colera dei polli.

Il dott. Palamidessi potè, a differenza di quello che accadde a me, operare in condizioni assai favorevoli: egli infatti fu chiamato da un suo collega, il quale curava i signori C. perchè con le ricerche batteriologiche aiutasse a rischiarare l'oscura diagnosi.

Egli prese in esame le orine dei quattro infermi C., il sangue del padre e quello della signora, ed ottenne i seguenti resultati:

Dalle orine ebbe sempre nelle culture colonie svariate di cocchi e bacilli; dal sangue del padre, raccolto da un dito, una sola colonia in un solo tubo di agar, colonia di diplococchi, che il Palamidessi ritenne dapprima essere una varietà dello pneumococco, ma che poi divennero gli speciali batteri da lui scoperti; dal sangue della signora ebbe colonie di cocchi che furono identificati per lo stafilococco piogeno aureo.

Il Palamidessi però ci afferma che inoculazioni fatte in conigli con culture ricavate dall'orina del C. padre e da quella del figlio gli dettero risultati positivi. In conclusione egli avrebbe ricavato il suo batterio da queste due orine e dal sangue del C. padre. Ma perchè nell'esame delle orine dar valore piuttosto ad un batterio che ad altri, che pure insieme con quello si svilupparono nella medesima cultura? Perchè negli esami del sangue dare importanza alla unica colonia nata in uno dei casi piuttostochè allo stafilococco ottenuto in tanta maggiore abbondanza nell'altro?

Ed altri appunti mi sembra si possano fare a queste ricerche del Palamidessi. Chiunque si occupa di batteriologia sa infatti quanta cura richieda la antisepsi del dito, quando non si possa che da questo raccogliere il sangue, e sa pure che qualche volta non basta, per evitare inquinamenti, di tenere il dito stesso involto lungo tempo in cotone imbevuto di sublimato e di lavarlo poi con alcool ed etere.

Ora io non so se il Palamidessi tanto insistesse in questa antisepsi del dito, e benchè egli dichiari di avere usato le necessarie cautele, io mi permetto di dubitarne appoggiandomi su due ragioni. Egli infatti avrebbe trovato nel sangue di due individui malati della stessa infezione due microrganismi diversi, in uno cioè il suo diplococco, anzi diplobacillo, nell'altro lo stafilococco piogeno aureo: d'altra parte poi, lo afferma egli stesso, le culture ottenute dalle orine furono tutte impure.

L'antisepsi del meato urinario fu quindi senza dubbio imperfetta, e se insufficiente fu pure, come è probabile, quella del dito, perchè non potrebbe essere egli accaduto che il microrganismo scoperto dal Palamidessi si trovasse nel momento delle sue ricerche sul meato urinario, ospite come tanti altri bat-

teri di quella località, ed accidentalmente anche sulla pelle del dito, da cui fu raccolto il sangue per lo esame batteriologico?

È ben noto che il bacillo del colera dei polli viene ritenuto identico al cuniculicida scoperto dal Gaffky nelle acque del Panke e verosimilmente assai sparso in natura. Non sarebbe dunque improbabile che in questo batterio o in un altro simile per caratteri e per propreità ed appartenente a quel gruppo di batteri che determinano una setticemia emorragica negli animali, si sia il Palamidessi per caso imbattuto nelle sue ricerche, e l' abbia ritenuto appunto per le proprietà patogene, che esso dimostrava, l' agente specifico della *Psittacosi*.

Del resto non fu solo il Palamidessi a studiare nel vivo questa infezione, poichè anche il dottor Silvestrini, Assistente alla Clinica medica, ebbe modo di far ricerche in casi perfettamente uguali ai C.; e siccome i risultati da lui ottenuti concordano coi miei, credo interessante di accennare ciò che a questo riguardo scrive il Palamidessi.

Egli si limita a dire che anche il dottor Silvestrini potè isolare da alcuni malati un microrganismo simile a quello trovato da me, che potè averne due culture, però non più patogene perchè datanti da due mesi, che infine nei preparati microscopici di quelle culture vide numerose catene di elementi accoppiati.

È in verità molto strano che il Palamidessi tanto poco insista, anzi sorvoli su questi risultati, che pure furono frutto di ricerche compiute in condizioni identiche alle sue, e desta meraviglia che egli, ad esempio, non dica neppure se provò a trapiantare il microrganismo in gelatina o se ne fece la colorazione del Gram.

Eppure queste ricerche avrebber dovuto interessarlo, ed è inverosimile non le abbia fatte; ed allora perchè non parlarne?

Il dottor Silvestrini, sapendo quanto la questione mi interessava, ebbe la cortesia, e tengo a ringraziarlo pubblicamente, di mostrarmi le culture da lui ottenute ed i preparati microscopici che aveva eseguito. Orbene, io posso assicurare che le culture erano identiche alle mie, che i diplococchi resistevano alla colorazione del Gram e che presentavano al microscopio tutti quanti i caratteri di quello da me isolato.

Anche dalle inoculazioni negli animali, il dottor Silvestrini ottenne risultati simili ai miei.

Io credo, senza insistere oltre nella. questione, di essere sufficientemente autorizzato da quanto ho esposto fin qui a ritenere il reperto del dottor Palamidessi come effetto di impurità esistenti alla superfice del corpo dei malati, o di impurità insinuatesi nelle successive ricerche di Laboratorio.

Lo scritto del dott. Palamidessi non mi avrebbe fatto perciò cambiare una sola parola nelle conclusioni del mio primo lavoro sulle Pneumoniti maligne, e stavo appunto per rispondergli pubblicamente in questo senso, quando mi si offrì l' occasione di studiare un altro caso sotto tutti i rapporti simile a quelli C.

Naturalmente sospesi la pubblicazione della mia risposta, volendo aggiungervi i risultati delle nuove ricerche.

Ecco in breve di che si tratta:

Qualche mese fa in una famiglia signorile abitante in Firenze, composta di sei individui, si ammalarono quasi contemporaneamente quattro persone; una soltanto rimase perfettamente sana, un' altra ebbe disturbi leggeri e due o tre giorni di febbre. Nel medesimo tempo si ammalarono anche due persone che avevano spesso occasione di frequentare quella casa, cioè un carbonaio ed una stiratrice.

Di questi sei individui cinque doverono soccombere alla infezione; uno soltanto dopo 15 giorni cominciò a migliorare, e guarì stentatamente. Orbene, questo insorgere contemporaneo della infezione, che per quanto ho potuto sapere presentò in tutti i casi presso a poco i medesimi caratteri, venne a coincidere con la morte di un pappagallo, che era stato comperato dalla famiglia un mese avanti, e che fin d' allora si era mostrato sofferente, abbattuto.

Io potei osservare direttamente l' andamento clinico della malattia nel carbonaio, che fu ricoverato nell' Ospedale di S. Maria Nuova: però per caso e disgraziatamente assai tardi venni a cognizione di questi fatti, e quando seppi che nell'Ospedale si trovava un caso sospetto di *Psittacosi*, erano già trascorsi cinque o sei giorni dalla ammissione dell' infermo e più di quindici dal principio della malattia.

Per amore di brevità ed autorizzato dal fatto che la infezione decorse in tutti i casi con fenomeni uguali, mi limito a riferire brevemente quanto riguarda il decorso clinico presentato dal carbonaio.

Egli entrò nell' Ospedale dieci giorni dopo l' inizio della sua malattia, che si presentò con brividi intensi di freddo e col sopravvenire di una febbre assai forte. Ebbe dolori vaghi, non ben localizzati, al torace, poca tosse accompagnata da un escreato, che non presentò l'aspetto dello sputo pneumonico.

All' esame obiettivo risultarono i segni di una bronco-pneumonite bilaterale, la milza apparve lievemente ingrandita. Vi furono fenomeni nervosi, rappresentati dapprima da un lieve torpore e da subdelirio, in seguito da coma interrotto di tanto in tanto da intensi moti convulsivi. L' infermo cominciò quasi subito a perdere le orine e le feci nel letto. Vi fu albuminuria, però non copiosa; nelle orine si trovarono con l'esame microscopico pochi elementi del sangue e qualche raro cilindro ialino.

Fu interrogata anche la moglie dell' infermo la quale disse, aver saputo che il marito aveva preso la malattia frequentando una casa, ove in seguito alla morte di un pappagallo quasi tutti si erano ammalati, e soggiunse che il medico aveva creduto dapprima trattarsi di tifo.

La malattia ebbe un decorso assai lungo, avendo durato 25 giorni e terminò colla morte.

Alla autopsia eseguita 24 ore dopo, i polmoni straordinariamente antracotici, furon trovati un poco aumentati di volume e di peso, flaccidi. Il sinistro era impermeabile all' aria nella parte anteriore e laterale di ambedue i lobi: quivi le superfici di taglio avevano un colorito grigiastro, erano lievissimamente granulose o del tutto levigate, e lasciavano sgorgare spontaneamente e più con la pressione o col raschiamento un liquido di colorito nerastro per il carbone sospeso. In questo liquido per la massima parte non aereato pure si vedevano qua e là delle bollicine, le quali stavano ad attestare che non dappertutto il polmone era impermeabile all' aria.

A destra l'alterazione risiedeva nella parte centrale e posteriore del polmone: le superfici di taglio nella zona alterata

presentavano i medesimi caratteri che a sinistra; soltanto il loro colorito non era uniforme, poichè erano grigiastre nella parte centrale, più rosse alla periferia.

La pleura viscerale del polmone destro era dovunque levigata, lucente; quella del sinistro opacata dove la alterazione polmonare raggiungeva la superfice. Esisteva bronchite purulenta assai intensa.

La milza era appena aumentata di volume, il parenchima di colorito roseo era molle, facilmente spappolabile. I reni erano un po' più grossi dell'ordinario, la capsula si svolgeva con facilità, la sostanza corticale alquanto aumentata di spessore spiccava per il suo colorito pallido sulla midollare discretamente iniettata specialmente alla base delle piramidi, aveva un aspetto torbido e dava al raschiamento del succo lattiginoso in modica quantità.

Nel tubo gastro-intestinale, nel cervello, nel midollo spinale e negli altri visceri nessuna alterazione degna di nota.

Le ricerche istologiche hanno dimostrato nel polmone la presenza di una flogosi in massima parte catarrale. L'essudato contenuto negli alveoli è quasi esclusivamente costituito da leucociti, da pochi globuli rossi e da rare cellule degli epiteli desquamate. Sono rari gli alveoli che contengono fibrina, e questa è sempre scarsissima.

Nelle sezioni colorite col metodo del Gram o con quello del Weigert, ed esaminate a forte ingrandimento, colpisce l'occhio una fagocitosi notevolissima. Si può dire non esista quasi un globulo bianco dell'essudato, il quale non contenga una quantità più o meno grande di corpiccioli coloriti intensamente in violetto, alcuni dei quali conservano sempre una forma distinta e sono riconoscibili per diplococchi, altri invece sono deformati o ridotti addirittura in frammenti minutissimi. Certo è che i microrganismi inclusi nelle cellule sono di gran lunga più numerosi di quelli liberi negli alveoli.

Accenno appena, essendo questo un fatto privo di importanza, alla presenza di una gran quantità di pulviscolo di carbone in parte libero, in parte penetrato nei linfatici e incluso o nelle cellule bianche o in quelle epiteliali degli alveoli.

Le alterazioni del rene sono in generale non molto profonde. Nel laberinto tumefazione torbida e necrosi ialina, sempre però poco estesa, degli epiteli dei tubuli. In qualche punto desquamazione, pure assai limitata, degli epiteli stessi. Nei tubuli intermedi, nella parte larga delle anse del Henle le stesse alterazioni ma ancor meno intense e meno estese. In qualche tubulo cilindri ialini.

Riguardo ai glomeruli, soltanto in pochi cavità capsulari esiste un detrito granuloso evidentemente costituito da albumina precipitata coi liquidi fissatori.

Ed ora, passando ad esporre i risultati delle ricerche batteriologiche, dichiarerò innanzi tutto che un primo esame del sangue fu da me fatto in vita, sei o sette giorni prima che l'infermo soccombesse. Questo esame non dette alcun risultato.

Il sangue con tutte le cautele antisettiche fu tolto mediante il salasso da una vena del braccio in una certa quantità. In esso, nè subito dopo averlo raccolto, nè dopo averlo tenuto 24 ore nel termostato a 37°, trovai batteri di sorta. Le culture rimasero tutte sterili, gli animali inoculati, cioè due passerotti (uno dei quali in trachea, l'altro sotto la pelle), un coniglio ed un topo sotto la pelle, non dimostrarono di aver risentito alcuno effetto dalla inoculazione.

Altrettanto non avvenne per il sangue tolto dal cadavere. In esso constatai coll'esame microscopico la presenza, benchè in numero assai scarso, di cocchi accoppiati, circondati da una capsula ben manifesta, i quali avevan forma lanceolata, resistevano alla colorazione del Gram, presentavano insomma tutti i caratteri del diplococco del Fränkel.

Lo stesso microrganismo trovai nel succo polmonare, ma in molto maggior quantità.

Le culture fatte direttamente in agar dal sangue e dal polmone non dettero risultato. Benchè l'esame microscopico vi avesse rivelato la presenza del diplococco, esso non si sviluppò in cultura. Di questo fatto, che dapprima destò in me una certa meraviglia, potei rendermi ragione più tardi, quando cioè ebbi avuto modo di studiare meglio i caratteri del diplococco mediante le inoculazioni in serie negli animali.

Subito dopo l'autopsia furono inoculati:

Un pappagallo con una certa quantità di brodo in cui era stato stemperato il succo polmonare (sotto la pelle).

Due passerotti uno col sangue, l'altro col succo polmonare (sotto la pelle.)

Un pollo con alcune goccie del medesimo brodo (in trachea).

Un pollo con un frammento assai grosso di polmone alterato e con una discreta quantità di sangue non diluito (sotto la pelle).

Un coniglio con un frammento del medesimo polmone, e uguale per dimensioni (sotto la pelle).

Un topo bianco con succo polmonare stemperato in brodo (sotto la pelle).

Un topo con sangue non diluito (sotto la pelle).

Mentre i topi ed i conigli morirono tutti in seguito alla inoculazione, il pappagallo, i polli ed i passerotti sopravvissero sempre resistendo perfettamente alla infezione.

Nel sangue del coniglio e del topo esistevano abbondanti nel primo, scarsi nel secondo, diplococchi capsulati, lanceolati, resistenti alla colorazione del Gram. Inoculai in serie tre conigli e quattro topi: gli animali morivano in uno spazio variabile tra 36 e 40 ore; nel loro sangue i diplococchi andavano sempre crescendo di numero.

Dal sangue di ciascuno animale feci culture in agar semplice e glicerinato e sul siero di sangue coagulato, portando direttamente, secondo il metodo del Prof. Banti, il sangue puro, o diluito in brodo, nell'acqua di condensazione dei tubi inclinati a becco di flauto, e facendo poi scorrere questa sulla superficie dei materiali di nutrizione.

Nè dal primo topo nè dal primo coniglio potei ottenere in cultura il diplococco: i varii tubi infettati rimasero perfettamente sterili.

Questo fatto assai strano, specialmente avuto riguardo al gran numero di diplococchi che si contenevano nel sangue del coniglio, credei di poter mettere in relazione col risultato negativo ottenuto nelle culture fatte direttamente dal cada-

vere, e ritenni verosimile di ammettere, per ispiegarlo, che il diplococco male adattandosi a terreni nuovi, non potesse dapprima svilupparvisi.

Le ricerche successive mi confermarono che questa ipotesi era giusta.

Infatti dal sangue del secondo coniglio ottenni benchè scarso e stentato lo sviluppo del diplococco. In uno soltanto dei varii tubi di agar infettati anche abbondantemente col sangue, ad una certa distanza dall'acqua di condensazione, che era rimasta perfettamente limpida, dopo 48 ore di soggiorno dell'agar nel termostato a 37°, si poteva a fatica vedere in un punto quattro o cinque colonie confluenti, però così piccole e così trasparenti da potersi a prima vista, anche da un occhio esercitato, confondere con quelle irregolarità che alcune volte rendono un po' scabra la superficie dell'agar.

L'esame microscopico dimostrò che esse erano costituite da cocchi riuniti a due o a catene, composte però sempre di coppie, cocchi delle dimensioni e della forma di quello del Fränkel, resistenti alla colorazione del Gram.

Trapianti in agar e in siero di queste colonie dieder luogo allo sviluppo di culture un po' meno stentate: con trapianti successivi lo sviluppo si rendeva più facile, mai però rigoglioso.

In modo uguale si contenevano nelle culture i diplococchi del sangue dei topi.

Aggiungerò anche che culture di terzo trapianto inoculate nel coniglio e nel topo ne determinarono la morte nel solito spazio di 36-40 ore, e che i diplococchi abbondantissimi contenuti nel loro sangue crebbero subito con una certa facilità nei soliti terreni di nutrizione.

Tutti questi fatti riuniti mi sembra stiano a dimostrare chiaramente come la ipotesi cui accennavo poco fa, cioè che il diplococco, dapprima refrattario a svilupparsi nei nuovi terreni, soltanto vi si adattasse gradatamente, sia veramente attendibile.

Il diplococco cresceva stentatamente in brodo e non si sviluppava affatto in gelatina a 20°-22°, dimostrando anche con questi caratteri di appartenere ad una delle varietà dello pneumococco del Fränkel. Inoculato in gran quantità col sangue di

coniglio, oppure dopo averlo ottenuto in cultura, nella trachea e sotto cute ai passerotti e polli non dimostrò mai di avere su questi animali potere patogeno.

Quanto alle alterazioni viscerali prodotte dal diplococco nei conigli, accennerò che la milza benchè un poco ingrossata non presentava mai macroscopicamente nè all' esame istologico i caratteri della vera milza fibrinosa. Col metodo del Weigert constatai infatti che la fibrina o non vi era contenuta affatto o solo in piccola quantità.

Instituii anche ricerche comparative studiando batteriologicamente qualcuna delle pneumoniti ordinarie, che si verificavano contemporaneamente a questa forma speciale, ed ebbi a convincermi che il diplococco isolato da quelle presentava i caratteri dello pneumococco ordinario, che cresceva cioè subito e con facilità nelle culture fatte sia dal succo polmonare del cadavere, sia dal sangue dei primi animali morti in seguito alla inoculazione.

Però, nonostante tali differenze in certi caratteri, ritengo in modo assoluto che il diplococo da me trovato in questo caso nuovo di presunta *Psittacosi*, non possa considerarsi che come una delle varietà del diplococco del Fränkel.

Riassumendo quanto ho fin qui esposto mi sembra risulti innanzi tutto evidente la somiglianza, direi quasi la identità, tra il caso che ho ora illustrato e quelli C. già studiati da me e dal Palamidessi.

Si è verificata infatti anche questa volta la coincidenza della morte di un pappagallo con lo insorgere contemporaneo della infezione in quasi tutta la famiglia che lo possedeva, i caratteri clinici hanno in gran parte corrisposto, le alterazioni anatomiche sono state assai simili a quelle da me constatate precedentemente, l' esame istologico e le ricerche batteriologiche mi hanno finalmente condotto a risultati, che, salvo piccole differenze, posson dirsi uguali a quelli che ottenni dallo studio dell' altra epidemia.

Quanto perciò affermavo dianzi in base agli appunti di critica, che credei poter fare al lavoro del Palamidessi, riceve ora ampia e valida conferma dai risultati di queste nuove ricerche.

Ed anche se una qualche incertezza poteva rimanere fin qui intorno al valore da attribuirsi al batterio scoperto dal Palamidessi, ora ogni ombra di dubbio necessariamente scompare, e si può senza tema di cadere in errore negare al batterio stesso qualunque importanza.

Avendo avuto infatti la possibilità di far ricerche anche sul sangue del vivo, io mi posi in condizioni identiche a quelle del dott. Palamidessi, anzi più favorevoli, perchè potei disporre di una maggior quantità di materiale ed ebbi modo di raccoglierlo in modo veramente asettico.

Le culture, rimanendo sterili, lo dimostrarono, ma dimostrarono al tempo stesso che nel sangue non si trovava dicerto il bacillo del Palamidessi.

Questo fatto fu confermato dalla inoculazione del sangue in animali, che avrebber dovuto rapidamente soccombere se insieme col sangue fosse stato introdotto in loro quel microrganismo, e che invece rimasero in perfetta salute.

E come questi si comportarono anche il pappagallo, i passerotti ed i polli inoculati coi materiali tolti dal cadavere; nessuno di loro mostrò mai di aver risentito il minimo effetto dalla inoculazione, e solo morirono i conigli ed i topi, gli animali cioè che sono sensibili all' azione dell' unico batterio da me isolato nel polmone e nel sangue, all'azione cioè del diplococco del Fränkel.

L' insistere nella questione mi sembra perfettamente inutile: il non aver trovato nè nel vivo, nè nel cadavere il bacillo del Palamidessi conferma che esso non ha nulla che fare con la presunta Psittacosi, e che non può considerarsi se non come una impurità.

Alla domanda che io mi facevo dianzi e che dicevo rappresentare il nodo della questione, la risposta è stata adunque data; ma può essa considerarsi come una risposta decisiva?

Il batterio del Palamidessi è fuori di causa: al diplococco della pneumonite non si può invece negare una importanza patogena. Ma quale importanza dovrà attribuirglisi? Dovrà esso considerarsi come l'agente unico della *Psittacosi*, oppure soltanto come il rappresentante di una infezione secondaria?

In una parola, concesso che una relazione esista tra la malattia o la morte di pappagalli e la infezione di cui stiamo trattando, è egli possibile di stabilire in che tale relazione consista?

Questa domanda io mi formulavo anche l'anno scorso a proposito dell'altra epidemia, e dichiaravo di non potervi rispondere perchè mi era mancato il materiale più opportuno, cioè il pappagallo supposto generatore della malattia. E la stessa dichiarazione debbo purtroppo ripetere ora.

Per quanto da molto tempo prima che si verificassero questi nuovi casi avessi teso le mie reti per cercar di coglievi un pappagallo o vivo o morto, che si potesse presumere causa della infezione, non riuscii nello intento, e non per mia colpa.

Ho saputo infatti che il cadavere del pappagallo accusato di aver determinato l'ultima epidemia ritornò nelle mani di chi lo aveva venduto; ma questi invece di portarlo a me, che già da gran tempo lo avevo pregato di avvertirmi ogni qual volta gli capitassero dei malati o dei morti tra i pappagalli, preferì, forse per paura che il suo commercio ne subisse dei danni, di sezionarlo da sè e poi di distruggerlo.

Sembra che riguardo all'autopsia, egli sapesse dire soltanto, e in realtà di più non v'era da pretendere, che vi aveva trovato malato il fegato.

Essendomi così mancato il materiale indispensabile alla risoluzione definitiva della questione, son costretto a rimanere anche questa volta ed anche più a malincuore nel campo delle ipotesi.

Si può adunque ritenere o che la *Psittacosi* sia un'infezione speciale determinata da un agente patogeno per il pappagallo, il quale però sfugge alle nostre indagini, e che la infezione diplococcica nell'uomo sia secondaria; oppure che l'unico agente specifico sia il diplococco, e che questo possa esser trasmesso direttamente dal pappagallo all'uomo.

Il Morange che ebbi luogo di citare nel mio primo lavoro sulle pneumoniti maligne, e che nella sua tesi di dottorato fu primo a dare il nome di *Psittacosi* alla infezione, si dichiara favorevole alla prima ipotesi; egli ritiene cioè probabile che la

infezione primitiva sia dovuta al batterio scoperto dal Nocard, e che ad essa si aggiunga frequentemente come infezione secondaria quella dovuta allo pneumococco.

Non credo opportuno, per non andare incontro a ripetizioni, di ritornare su quanto esponevo a questo riguardo nella ultima parte della mia prima pubblicazione.

Ripeterò soltanto che al batterio del Nocard credo non si possa attribuire una importanza decisiva, prima di tutto per le condizioni sfavorevolissime in cui il Nocard fu costretto ad operare, in secondo luogo perchè il batterio non fu mai trovato nell'uomo e nemmeno in altri pappagalli malati della stessa infezione.

L'altra ipotesi tenderebbe a far ritenere, come accennavo poco fa, che il diplococco fosse l'unico agente specifico della infezione e che esso potesse trasmettersi direttamente dal pappagallo all'uomo.

Ma come conciliare questa ipotesi con i risultati costantemente negativi che ottenni inoculando il diplococco del Fränkel nel pappagallo e negli altri volatili? Come ritenere unica causa della malattia e della morte del pappagallo, e poi della infezione nell'uomo, un batterio che, tolto dall'uomo stesso colpito da *Psittacosi*, non esercita poi sul pappagallo alcun potere patogeno?

Quantunque a prima vista possa sembrare il contrario, tale obiezione non ha però un valore assoluto. Si potrebbe cioè supporre che esista talora in natura una varietà di diplococco capsulato patogeno per il pappagallo, ma che perde tale proprietà passando per l'organismo umano; oppure ammettere che il diplococco stesso eserciti un' azione patogena sul pappagallo soltanto in condizioni speciali, quando per esempio si trovi associato a certi altri batteri.

In appoggio della prima supposizione potrei citare il fatto che strettococchi molto patogeni per i conigli e pochissimo per i topi, dopo pochi passaggi per questi ultimi animali, divengono per loro virulentissimi mentre perdono ogni potere patogeno per i conigli. In appoggio della seconda potrei citare gli studi del Metchnikoff sulla inumunità e recettività coleriche. Il Metchnikoff infatti afferma che nella immunità e recet-

tività dell' uomo e degli animali di fronte al colera intestinale, influisce moltissimo la presenza di altri batteri nel tubo digerente, alcuni di questi avendo il potere di impedire, altri invece di accrescere l'azione del vibrione colerico.

Ma lasciando da parte le congetture e venendo alle conclusioni, io debbo dichiarare, che nell'infezione trasmessa probabilmente dai pappagalli all' uomo o *Psittacosi* esiste nell' organismo umano un solo batterio coltivabile, cioè il diplococco lanceolato capsulato.

Dal Laboratorio di Fisiologia del R. Istituto Superiore di Firenze
diretto dal prof. G. Fano.

CONTRIBUTO ALLO STUDIO

DEI PROTEICI DEL SIERO SANGUIGNO NELLA PUTREFAZIONE

DEL

DOTT. OSCAR LUZZATTO

(RIASSUNTO DELLA TESI DI LAUREA).

La putrefazione del sangue non è naturalmente che un capitolo della putrefazione in generale; è anch'esso un materiale che collo stesso ciclo va soggetto ad una distruzione perfettamente analoga a quella che si esercita sulle altre sostanze già appartenenti al regno organizzato.

Qui però il problema acquista una speciale importanza perchè nel sangue si trova il materiale che deve essere utilizzato per la vita, e in esso dobbiamo cercare anche la spiegazione di tanti fatti patologici. Cosicchè fu detto che la composizione chimica del sangue, quando fosse ben conosciuta, sarebbe molto preziosa per la soluzione dei grandi problemi della patologia (1).

La medicina legale ha studiato sotto molti punti di vista la putrefazione del sangue, sopra tutto prendendolo in toto, e considerandone specialmente gli elementi morfologici. Fu studiato il principio della putrefazione del sangue normale, del sangue di animali avvelenati, ecc.; il ritardo della coagulazione in varie condizioni; la spettroscopia del sangue e i microrganismi che vi si succedono dopo la morte.

Su quest'ultimo argomento hanno fatto delle ricerche Billroth (2), Tamassia (3), Salomonsen (4), Feltz (5), Kaufmann (6), Straffmann e Strecker (7), Bordoni Uffreduzzi (8), Beck (9) e in ultimo S. Ottolenghi (10), il quale è arrivato alle seguenti conclusioni:

« I batteri che trovai nell' uomo e negli animali si dimostrarono, pel modo di comportarsi colle sostanze albuminoidi (carne), agenti di putrefazione più o meno intensa, tutti in diverso grado alterano in modo il substratum in cui vennero innestati, da renderlo più o meno tossico in animali secondo anche la natura stessa del terreno.

« L'aver riscontrato in diversi casi di morte improvvisa, in dato stadio di putrefazione, in determinate condizioni di tempo e di temperatura costantemente gli stessi microrganismi nel sangue di una stessa località del cadavere, mi inducono la convinzione che ulteriori ricerche possano stabilire una vera cronologia batteriologica della putrefazione, il che aprendo nuove regioni alla moderna tanalogia tornerà di evidente utilità pratica pella medicina forense. »

Determinazioni relative al contenuto in proteici del siero nella putrefazione, per quante ricerche bibliografiche abbia fatto non m'è riuscito di trovarne; e se il siero di sangue è stato variamente analizzato nelle malattie e con reperti vari, nella putrefazione mi sembra di poter portare i primi dati numerici e un primo contributo allo studio della resistenza delle sue proteine all'invasione del processo putrefattivo.

Essendosi preso per punto di partenza il siero sanguigno, si doveva prima di tutto procedere alla determinazione del contenuto normale di esso. Perciò, lasciato da parte il contenuto in sali minerali e altri elementi costanti, ma di secondaria importanza per le nostre ricerche, quali la colesterina, la lecitina, il glucosio, i grassi, i sali, i saponi, l'urea, l'acido urico, la creatina, i corpi santici e la materia colorante (11) che figurano per una scarsa percentuale, restano di notevole soltanto i corpi proteici.

È noto come il siero di sangue sia un ottimo mezzo di coltura pei batteri. In esso si trovano due specie di sostanze proteiche che si possono ben distinguere e separare con sufficiente esattezza, le siero-globuline e le siero-albumine, rappresentate da diverse varietà nella scala zoologica e nello stesso individuo.

Lievi differenze in quantità e nelle loro proprietà le distinguono nei loro rapporti, e queste differenze si risentono per mutate condizioni di vita e per influenza di organi speciali, e si

manifestano con variazioni quantitative nella anemia come dopo la tiroidectomia, come risulta da studi fatti in questo stesso laboratorio anche per quel che riguarda le differenze sessuali e quelle relative al grado diverso di evoluzione delle specie animali nella scala zoologica (12).

Un diverso valore nutritivo, una diversa funzione biologica le fa distinguere l'una dall'altra, e così pure il loro comportamento chimico. Le globuline costituiscono la prima famiglia dei corpi proteici; esse sono in quantità superiore alla siero-albumina nel sangue di bue (che ho preso ad analizzare), minore nell'uomo, e nei trasudati umani non si trovano in rapporti costanti colla siero-albumina (13); si trovano principalmente negli elementi morfologici, sebbene in parte siano disciolte nel plasma. Anzi nel plasma ve ne ha quantità relativamente rilevante; però in genere come risultato della disorganizzazione degli elementi morfologici dei tessuti, esse rappresentano l'elemento catabolico, laddove alla siero-albumina colle sue varietà α, β, γ (Halliburton) che si distinguono per una diversa temperatura di coagulazione, spetta la funzione per eccellenza anabolica. Perchè questa differenziazione fondamentale nelle funzioni animali, questa distinzione dei materiali che costituiscono l'organismo, in plastici e regressivi, si può fare bene nel siero di sangue, e le vicende che traversano le sostanze di diversa funzione nei differenti periodi dell'attività, stanno a dimostrare per le une la loro relazione con la liberazione di forza tensiva che il corpo animale utilizza, e per le altre stanno a rappresentare il circolo di ritorno del materiale usufruito e che avendo poco da offrire, deve essere in seguito eliminato come prodotto e residuo della funzione normale.

Ma tra queste due specie di sostanze proteiche che vivono almeno negli animali superiori l'una accanto all'altra, nello stesso ambiente e funzionano separatamente, parrebbe naturale ammettere una certa loro indipendenza funzionale. Avviene lo stesso nella vita dei batteri quando questa si sviluppi a spese di tali elementi?

Avranno essi facoltà di mutarle l'una nell'altra, agendo più particolarmente sull'una, e portandovi delle intime modifica-

zioni di struttura e quindi di proprietà in modo analogo a quello osservato dal prof. Fano (14) intorno all' azione dei corpuscoli rossi sui peptoni?

Oltre che nel siero, anche nei trasudati, che derivano direttamente da esso, si trovano le due medesime sostanze proteiche. D' altra parte queste stesse sostanze non sono sempre presenti negli stessi rapporti per la loro capacità di filtrazione diversa (15) e per le condizioni chimiche del sangue da cui sono provenute.

Ho analizzato il liquido ascitico proveniente da un malato di cirrosi epatica del Laënnec, e il trasudato pleurico di una cardiopatica, che pei loro caratteri corrispondevano a quelli che sono loro attribuiti.

« Di solito il liquido peritoneale è citrino, a riflessi leggermente verdastri, con una densità di 1010 a 1015 e reazione alcalina. Talune volte ha una tinta giallo-verdastra o sanguinolenta per la presenza di emoglobina, dovuta a dissoluzione di emazie.

« Il contenuto solido varia da 2 a 3 °/₀, del quale 1 a 2 di spettanza alle sostanze albuminoidi, le quali sono rappresentate da proporzioni pressochè uguali di serina e globulina. Oltre al glucosio, all'urea, colesterina, urobilina, si trovò leucina ed anche talora allantoina.

La insignificante quantità di fibrinogeno contenuto nel liquido ascitico spiega la quasi sua incoagulabilità. L'esame microscopico fa vedere qualche raro leucocito ed elementi endoteliali, più o meno facilmente riconoscibili, di rivestimento del peritoneo (16).

L'idrotorace presenta il liquido più albuminoso nella categoria dei trasudati, di reazione neutra o leggermente alcalina, con gli stessi fondamentali costituenti del liquido dell'ascite.

Il siero sanguigno di bue è leggermente colorato in giallo rossastro, contiene il 90 °/₀ d' acqua e, secondo Hammarsten, le sostanze albuminose nelle seguenti proporzioni percentuali: peso totale degli albuminoidi 7.499, globulina del siero 4.169 sierina (le varietà β γ) 3.330. Rapporto della quantità di globulina a quella della sierina (Eiweissquotient di Hoffmann): 0.842.

Nel corso della putrefazione questi liquidi conservano la loro *alcalinità* (17), la *densità* si modifica per l'aggiunta dei batteri che esistono in sospensione, poi determinano una massa che si deposita in strato più profondo, lasciando agli strati intermedi di conservare l'apparenza liquida, ma molto intorbidata, mentre alla superficie si forma una tenue cotenna di zooglee.

L'*odore* varia nei diversi periodi, in maniera corrispondente e quella che si avverte per le altre materie putrescibili: così Canalis e Di Mattei (18) sperimentando su infusioni in acqua di pezzi di carne tenuti entro vasi coperti hanno trovato:

1° periodo di putrefazione, fra 3 e 10 giorni, in cui il liquido era poco torbido, di odore spiacevole, di reazione acida con presenza di cocchi e grossi bacilli; un secondo periodo fra i 20 e i 30 giorni, in cui s'aveva un'apparenza più torbida, grigiastra, neutra la reazione chimica, e si svolgeva un odore nauseabondo; un terzo periodo infine fra i 60 e gli 80 giorni, in cui si era giunti ad uno stato fangoso, con reazione alcalina, e l'odore era divenuto meno spiacevole.

Analogamente ho trovato procedere il fatto nei sieri da me studiati. Quanto al *colore* poi per trovarsi nel siero sanguigno traccie di emoglobina, si è avuta transitoriamente la formazione di pigmento verde, che è scomparso presto, a conferma di quanto ha trovato il prof. Pellacani (19) per sostituzione ad esso di colori più difficilmente definibili e d'origine complicata. Abbastanza oscura del resto è pure l'origine del colore verde della macchia cadaverica, o del sangue che putrefà direttamente, che si produce per la presenza di emoglobina. Quanto alle sostanze che si formano nella putrefazione del sangue, dopo due mesi il Coppola (20) non vi ha riscontrato traccie di ptomaine, che egli dubita non si formino direttamente per l'azione dei batteri, ma per azione degli acidi che si sviluppano nella putrefazione.

E. ed H. Salkowski (21) hanno ottenuto dalla putrefazione della sieroalbumina e della carne pochi ossiadici aromatici; dalla prima dell'acido paraossifenilacetico, dalla seconda dell'acido paraossifenilpropionico; in presenza d'aria non ottennero neppure traccie di tali acidi, ma solo i corrispondenti fenoli, al di fuori dell'aria per contro ebbero a trovare meno

tenoli e più ossiacidi. Nei prodotti della putrefazione inoltre secondo essi esiste una sostanza scatologena che si separa insieme con gli ossiacidi. Ne ottennero una piccola quantità, non pura, che si scioglie nell'acqua, fonde a 161° dando CO^2 e scatolo, probabilmente un acido scatolcarbonico.

Questi prodotti derivano dal contenuto proteico; ma importa la loro produzione la distruzione completa delle sostanze preesistenti? Il meccanismo d'azione e i fattori della putrefazione si comportano ugualmente in tutte le sostanze esposte alla loro influenza: ci sono però delle condizioni favorevoli come ve ne ha di quelle che limitano fino ad impedire questo fenomeno.

Il sangue come tutti gli altri tessuti si altera più presto per la putrefazione all'aria che nell'acqua (22), se ossicarbonato il sangue offre maggior resistenza del sangue ossigenato alla decomposizione putrida (23): e i batteri della putrefazione invadono il sangue d'un animale ucciso nello stato di salute dopo molti altri organi (24).

Tutte le condizioni che rendono difficile la vita e la funzione dei batteri saprogeni impediscono che il materiale vada soggetto alle trasformazioni, che si riassumono nel fatto di fermentazioni che in parte tolgono e in parte aggiungono contemporaneamente diversi composti (25).

È per vedere come procede la utilizzazione delle proteine del sangue per parte dei microrganismi della putrefazione che ho eseguito queste analisi.

Mi sono valso in queste ricerche del sangue (venoso) di bue, lasciato coagulare lentamente; decantato il siero esso veniva sottoposto a centrifugazione, dopo di che veniva conservato in un cilindro coperto, racchiuso in una specie di camera umida in modo da impedire assolutamente la evaporazione, e quindi la concentrazione del liquido in esame: che questo scopo fosse raggiunto veniva dimostrato dalla costanza di volume del liquido stesso. I saggi si facevano alla distanza di otto giorni l'uno dall'altro nei primi tempi, e di poi con maggiori periodi, come si vede dagli specchi riassuntivi.

Ciascun dosaggio è fatto in doppio; si prendevano contem-

poraneamente in due bicchierini due dosi uguali di siero e si trattavano ugualmente. Cinque centimetri cubici di siero in ogni bicchierino venivano diluiti con 25 cc. di una soluzione satura di solfato di magnesio; s' aggiungevano dei cristalli di solfato di magnesio finamente polverizzati, finchè se ne scioglievano a fine di saturare il liquido. Dopo 24 ore si raccoglieva la soluzione su d' un filtro prima disseccato in apposito pesafiltro di vetro nella stufa a + 110° pesato fino a dare in due volte successive un peso costante, e conservato nell' essiccatore ad acido solforico. Prima d' adoperarlo se ne aprono i pori con la soluzione di solfato di magnesia.

Lavando sempre con la soluzione di solfato di magnesia per raccogliere tutto il precipitato del bicchierino sul filtro, su questo se ne aggiungeva sempre fino a che il filtrato alla ebullizione, coll' aggiunta dell' acido acetico diluito mostravasi limpido, cioè privo di sostanze albuminose. Il filtro che conteneva così precipitata la siero globulina, col proprio imbuto si poneva nella stufa a + 110° e vi si lasciava per 24 ore; dopo di che si lavava con acqua distillata bollente fino a completa eliminazione del solfato di magnesia, che si riconosceva col reattivo comune dei solfati, il cloruro di bario; indi si lavava due volte con alcool bollente, una volta con etere; si lasciava asciugare e seccare alla stufa, rimesso il filtro nel pesafiltro corrispondente, fino ad ottenere due pesate successive di valore costante. D' altra parte il filtrato si faceva bollire con aggiunta di acido acetico diluito, in modo che nel mezzo leggermente acido coagulassero le sieroalbumine. Si raccoglievano anche queste su filtro di peso conosciuto, si lavavano fino a completa eliminazione del solfato di magnesia, vi si passava per due volte dell' alcool bollente, indi dell' etere e dopo conveniente essiccamento si pesavano fino ad avere nel modo ordinario i valori definitivi. A riprova dell' esattezza del metodo nel filtrato definitivo, si fece la ricerca con acido acetico e ferrocianuro potassico, riuscito sempre negativo. Questo metodo, di Hammarsten (26), col quale ho proceduto pure alle determinazioni analitiche in due trasudati sierosi umani, è stato sempre adoperato nel Laboratorio per tutte le ricerche delle sostanze proteiche del siero di

sangue, per la sua semplicità che nello stesso tempo offre l'affidamento della maggiore esattezza: ed è ciò che lo fa preferire agli altri per quanto sia molto lungo, e la filtrazione proceda lentamente quanto più il siero acquista in prodotti che ne aumentano la vischiosità.

Si ottiene il contenuto in materie solide per cento del siero mettendone una data quantità esattamente misurata in un crogiolino di porcellana, previamente seccato a + 110° pesato fino a dare due valori costanti, e conservato in apposito essicatore ad acido solforico. Pesato il crogiolo ben secco vuoto e con il siero, lo si ripesa dopo lasciato nel bagno d'aria a + 110° fino ad averne peso costante dopo due successivi essiccamenti. Dopo ciò una semplice proporzione tra i pesi del siero raccolto e del disseccato con riporto al per cento, dà il contenuto in materie solide.

Visti i risultati che andavo ottenendo, ho pensato di studiare separatamente da ogni altro corpo, la resistenza della globulina del siero alla putrefazione. Perciò da alcuni grammi di albumine secche del sangue quali si trovano in commercio, dopo parecchi tentativi, con diluizione calcolata ad un contenuto di 0,7 % di albumine nel sangue, facendo gorgogliare dell'anidride carbonica nella soluzione ottenni la precipitazione della globulina, che lasciavo depositare al fondo di un cristallizzatore e raccoglievo per decantazione, separandola completamente dalla siero-albumina, e che veniva poi raccolta con breve centrifugazione. Sciolta poi in soluzione al 2 % di NaCl, ho fatto la determinazione del contenuto percentuale in globulina colla precipitazione col solfato di magnesia o colla coagulazione, mentre la soluzione conservata nel modo sopra descritto per i sieri andava putrefacendo.

Per ragioni indipendenti dalla mia volontà non m'è riuscito di poter fare un numero sufficiente di determinazioni, in base alle quali poter fare delle deduzioni giustificate, perciò mi riservo a ripeterle e ampliarle avanti di comunicarne i risultati.

Serie I

Sangue di bue raccolto in un cilindro il 24 novembre 1894 e lasciato coagulare in una stanza a + 9° C. Il 26 novembre si decanta il siero e si sottopone alla centrifugazione per 1/2 ora; si decanta di nuovo e si conserva nel modo descritto, in una stanza a + 9° C.

Numero	Data dell' analisi	Globuline media °/₀	Sierine media °/₀	Quoziente	Osservazioni
1	27 novembre 1894....	2.79	3.52	1.289	
2	2 dicembre 1894.....	2.56	3.52	1.374	
3	8 dicembre 1894.....	2.54	3.474	1.367	
4	14 dicembre 1894.....	2.61	3.526	1.349	
5	18 dicembre 1894.....	2.516	3.565	1.416	
6	25 dicembre 1894.....	2.292	3.524	1.537	
7	19 gennaio 1895......	2.214	3.197	1.403	
8	12 febbraio 1895......	1.175	1.952	1.70	

Serie II

Sangue di bue raccolto il 29 dicembre 1894, lasciato coagulare lentamente alla temperatura di + 5° C. Si decanta il siero e si centrifuga per due ore il 31 dicembre. Si conserva il siero come sopra.

Numero	Data	Residuo solido	Globuline media °/₀	Sierine media °/₀	Quoziente	Osservazioni
1	19 genn. 1895	7.88	3.515	3.102	0.883	
2	23 febb. 1895	8.235	3.354	3.04	0.906	
3	25 marz. 1895	7.907	3.262	3.134	0.96	Odore nauseante; si inizia la modificazione del colore e la perdita della limpidità.
4	26 aprile 1895	6.509	1.925	2.752	1.439	Giallo verdastro se esaminato in strati sottili, anche se presi a una certa profondità.
5	27 mag. 1895	6.5	1.22	1.862	1.482	
6	27 mag. 1895	6.147	0.691	3.402	5.046	Il siero adoperato qui, fu filtrato attraverso un filtro di carta avanti di essere analizzato.

Serie III (¹)

Sangue di bue, raccolto il 3 Luglio 1895, lasciato coagulare lentamente, 24 ore dopo si decanta il siero che risulta un po' colorito in rosso, e viene poi tenuto nel solito modo nella cantina del Laboratorio a + 18° C.

Numero	Data	Residuo solido	Globuline media %	Sierine media %	Quoziente	Osservazioni
1	5 luglio 1895	8.412	3.661	2.991	0.820	Il siero è di color rossastro.
2	5 agosto 1895	7.0	2.9	2.45	0.845	Conservato al buio, in locale relativamente fresco, è già d'odore disgustoso.
3	5 sett. 1895	6.5	3.38	3.26	0.981	Puzzolente in alto grado.
4	9 ottob. 1895	6.59	1.13	2.718	2.39	D'odore insopportabile, ha assunto color rosso-verdastro per trasparenza, di mota a luce refratta, quasi color terra, diviso in tre strati: 1° superficiale con velo giallastro di zooglee; 2° medio liquido, rosso bruno suddiviso in due strati il più superficiale giallastro per trasparenza in non grande spessore; il più profondo rosso carico; 3° strato di deposito grigiastro, di discreto spessore. Anche non agitato tramanda odore acre, in qualche modo simile all'esalazioni dei bottini, che si diffonde straordinariamente e persiste.
5	5 nov. 1895	6.43	0.858	2.735	3.31	
6	5 dicem. 1895	6.27	1.093	2.470	2.27	
7	5 genn. 1896	5.83				
8	5 febb. 1896	5.96				
9	5 marzo 1896	5.83				

(¹) Le prime tre determinazioni di questa serie furono eseguite da me nel Laboratorio di chimica del R. Istituto Tecnico di Udine. Al professore G. Nallino, direttore, che mi diede cortese ospitalità, esprimo qui la mia sincera gratitudine.

Serie A

Liquido ascitico estratto con paracentesi da un malato di cirrosi epatica del Laënnec, degente nella Clinica Medica.

Numero	Data	Residuo solido	Globuline media °/₀	Sero-albumina media °/₀	Quoziente	Osservazioni
1	17 genn. 1895	......	0.968	0.999	1.033	Giallo-verdastro limpidissimo, di reazione neutra.
2	22 febb. 1895	3.1764	0.936	0.783	0.803	Il colore è andato modificandosi fino ad assumerne uno tendente al color macchia di lampone. L'odore è sempre stato meno disgustoso di quel che esalava il siero sanguigno vicino.
3	28 marzo 1895	3.011	1.257	0.775	0.616	
4	24 aprile 1895	2.674	0.664	0.738	1.166	
5	24 magg. 1895	2.560	0.224	0.731	6.233	
6	24 magg. 1895	2.541	0.479	1.493	3.303	Filtrato prima d'essere sottoposto all'analisi.

Serie B

Trasudato pleurico, estratto con paracentesi da una cardiopatica, ricoverata nell' Ospedale della Maternità.

Numero	Data	Residuo solido	Globuline media °/₀	Sero-albumina media °/₀	Quoziente	Osservazioni
1	11 ottob. 1895	2.963	0.622	1.007	1.62	Di colore paglierino, limpidissimo.
2	11 nov. 1895	2.75	0.441	0.918	2.08	Odore ingrato.
3	11 dicem. 1895	2.52	0.336	0.87	2.59	È andato acquistando colore sempre più scuro.
4	11 genn. 1896	2.33	0.566	......	......	Odore nauseabondo.
5	11 febbr. 1896	2.36	0.652	0.740	......	Alla superficie presenta una lieve cotenna grigiastra, chiara; immediatamente sotto c'è uno strato meno denso giallo-arancio (per trasparenza). Lo strato medio della colonna è colorato in rossastro. Verso il fondo il colore è ancora più carico. — Il fondo del vaso è occupato da un deposito grigiastro. L'odore è sempre stato meno forte che nel siero sanguigno che veniva esaminato contemporaneamente.
6	11 magg. 1896	2.31				

Risulta dai dati numerici esposti che:

I. Le sostanze proteiche del sangue e dei trasudati risentono abbastanza lentamente l'azione distruttiva dei batteri saprogeni, tanto che anche dopo un anno, nel liquido messo a putrefare si riscontrano ancora in notevole quantità tali sostanze non modificate.

II. Il processo non ha un andamento graduale e regolare; il suo decorso è in strettissima relazione con la temperatura dell' ambiente.

III. Nel siero sanguigno è maggiore la distruzione della globulina che non quella delle sieroalbumine, e questo rapporto si accentua col progredire del processo di decomposizione.

IV. Nei trasudati questo rapporto non è costante.

***

Fra queste due ultime conclusioni c' è un apparente contraddizione; in qual modo spiegare infatti come le sostanze proteiche dei trasudati, provenienti dal siero sanguigno, si comportino in modo diverso da quelle del siero stesso?

Il trasudato, è vero, deriva dal sangue, ma esso si produce per un processo in parte di filtrazione, in parte di osmosi, in parte di natura ancora ignota, con alcuni elementi funzionali che ricordano le secrezioni, e questi processi sono esplicati in gran parte almeno dalle pareti vasali viventi, le quali hanno un'influenza non del tutto determinabile, ma certo assai notevole.

Il trasudato una volta prodottosi, rimane in una cavità le cui pareti pure reagiscono modificandolo. Ne derivano per conseguenza cangiamenti nella costituzione chimica primitiva del liquido trasudato.

Diverse varietà di globuline e di sieroalbumine esistono e nel siero stesso e sopratutto nei trasudati; questo e altri dati relativi alla loro facoltà diversa di filtrazione maggiore per la sieroalbumina (27), e forse certe modificazioni fisico-chimiche intime della molecola proteica di origine discrasica o secondaria ad alterazioni degli elementi dell' organismo, possono spiegare il diverso comportamento delle sostanze proteiche dei trasudati anche di fronte al processo di decomposizione putrida.

A spiegare il fatto della più spiccata diminuzione di globuline nel siero sanguigno in putrefazione, si deve ricordare la funzione di questa sostanza e l'azione dei microrganismi.

Il carattere catabolico della globulina si riassume chimicamente in una relativa maggior semplicità di costituzione, sicchè questa sostanza che ritorna dai tessuti dopochè questi l'hanno utilizzata per le loro funzioni, rappresenta un rifiuto, un materiale di eliminazione che ha perduto una parte delle sue energie potenziali.

E poichè esso è un materiale reso più semplice, esso rientra più facilmente fra quelli che vanno a costituire in generale le sostanze dalle quali i vegetali traggono i materiali pei loro processi sintetici.

Il regno vegetale, che da un punto di vista chimico rappresenta l'elemento sintetico della vita, da un punto di vista dinamico rappresenta il trasformatore di energie attuali in potenziali. Però nelle piante possiamo osservare processi analitici come negli animali processi sintetici. Così noi sappiamo come i funghi e i bacteri non abbiano la capacità di assimilare il carbonio decomponendo l'anidride carbonica, sicchè traggono il carbonio da corpi organici come lo zucchero, l'acido tartarico, ecc., tal quale come gli animali, e per contro assumono l'azoto da materiali inorganici, dalla ammoniaca o dai nitrati come le piante. I fermenti organizzati (funghi, bacteri) assumono energia latente ed emettono energia attuale (calore, movimento) come gli animali, e per contro formano corpi proteici da idrati di carbonio e da composti azotati inorganici per via sintetica come le piante.

Perciò fino a un certo punto era prevedibile che la sieroglobulina dovesse cedere prima e più ai microrganismi della putrefazione; essa ha per questi ultimi un valore nutritivo altissimo.

Concorda con tutto questo la conclusione a cui sono arrivati il prof. Mya e il dott. Viglesio nelle loro « Ricerche quantitative sulle sostanze albuminose del siero dei trasudati ed essudati e del siero sanguigno in varie malattie » (28), nelle quali, come appendice al lavoro d'indole clinica, hanno sottoposto alla

putrefazione essudati pleuritico e di idrocele, e hanno trovato in un primo stadio una diminuzione del quoziente, in un secondo un aumento notevolissimo, « il che ci attesta, dicono, che nell'ordinario processo di putrefazione, mentre nei primi giorni resta lievemente intaccata la sierina, più tardi viene poco a poco distrutta quasi esclusivamente la globulina. Il che è forse dovuto al prevalere in periodi diversi di varie qualità di saprofiti, ed al fatto che la globulina costituisce un pabulum nutritizio meglio confacente ai veri batteri putrefacenti. »

So benissimo che questo lavoro rappresenta appena la parte di un capitolo sulla questione della putrefazione dei corpi proteici, non credo però che i risultati ottenuti sieno completamente privi di interesse per quanto riguarda sopratutto l'ufficio biologico dei corpi proteici.

***

Esprimo la mia gratitudine all'illustre prof. G. Fano, che dopo avermi suggerito quest'argomento di studio, ha voluto benevolmente seguirne lo svolgimento, aiutandomi con preziosi consigli.

BIBLIOGRAFIA

(1) Gilbert, Pathologie du Sang (in Traité de Médecine, publié par Charcot, Bouchard, Brissaud. Tome II, pag. 490).
(2) Cocca bacteri septica, 1874.
(3) Rivista sperim. di Freniatria e Med. legale, 1875, pag. 447.
(4) Nordisk medicinisk Archiv, Bd. IX, 10, 1887.
(5) C. R. de l'Acad. de Sciences, LXXXIV, 18.
(6) Journal f. prakt. Chemie, 1878.
(7) Zeitschr. f. Medicinalbeamte, 1889, S. 65.
(8) Atti della R. Accad. dei Lincei, CCLXXXVII, 1890.
(9) Die Fäulnissbakterien der menschlichen Leiche in Arbeiten aus dem Gebiete d. pathol. Anat. u. Bakter aus dem pathol. anat. Instit. zu Tubingen, I, pag. 155, riferito in Ctrblt. f. Bakter., XI.

(10) Les microrganismes de la putréfaction dans le sang du cadavre humain. (Arch. ital. de Biolog., XVIII, 1892, pag. 480.)

(11) Lambling-art. Sang in Encyclopédie de Chemie di Frémy, etc.

(12) V. i lavori eseguiti sotto la direzione del prof. Fano dai dott. Favilli (in Arch. per le scienze mediche, vol. XIII, n. 12), Ducceschi e Di Frassineto (Sperimentale, sezione biologica, 1895).

(13) HALLIBURTON, Lehrbuch der chemischen Physiologie.

(14) G. FANO, Di una nuova funzione dei corpuscoli rossi del sangue. (Sperimentale. 1882.)

(15) MYA e VIGLEZIO, v. Rivista clinica. (Archivio italiano di clinica medica, 1888. Cfr. anche LIMBECK.

(16) V. PATELLA, Malattie del fegato (nel Trattato ital. di Patologia e Terapia medica, diretto dal Maragliano, pag. 169).

(17) FR. COPPOLA, Alcaloïdes de la putréfaction (in Arch. it. de Biologie, 1884, vol. VI, pag. 101).

(18) CANALIS e DI MATTEI, Contributo allo studio della influenza della putrefazione sui germi del colera e del tifo (in Bollettino della R. Accad. Med. di Roma, 1888).

(19) Riv. sperim. di Fren. e Med. leg., 1884, sez. Med. leg., pag. 95 e segg.

(20) Loc. cit. (n. 17).

(21) Weitere Beiträge zur Kenntniss der Fäulnissprodukte der Eiweiss. (in Bericht. der d. Chem. Gesellsch., 13°, 189-193).

(22) OTTOLENGHI, Osservazioni sperimentali sul sangue asfittico. (Arch. p. le scienze mediche, vol. 17°, n. 15, pag. 349.)

(23) LUCIANI e BUFALINI, Sul decorso dell'inanizione (in Arch. p. le scienze mediche, V. 1882, pag. 338).

(24) SERGI TROMBETTA, Die Fäulnissbakterien und die Organe und das Blut ganz gesund getödteter Thiere. (Auf dem hygien. Institut der Universität Berlin), in (Ctrblt. f. Bakteriolog., X, pag. 668). Egli reca anche una bibliografia dell' argomento.

(25) CH. ROBIN (in Journal de l'Anat. et de la Physiologie, anno XV, 1879, pag. 490–491).

(26) HAMMARSTEN, Pflüger's Archiv, 18.

(27) MYA e VIGLEZIO, loc. cit.

(28) Ibidem.

SUL CONTEGNO
DELLA PRESSIONE SANGUIGNA DURANTE L'ANNEGAMENTO
IN RAPPORTO CON LA PRODUZIONE DELLE ECCHIMOSI SOTTOPLEURALI

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

DOTT. LORENZO BORRI

Libero docente di medicina legale
nel R. Istituto degli Studî Superiori di Firenze. [1]

Dei fatti anatomo-patologici che possono costituire uno speciale elemento di diagnosi medico-legale, nessuno certamente fu analizzato e discusso negli ultimi tempi più delle *ecchimosi viscerali*, e di quelle in ispecial modo che si osservano al disotto del rivestimento pleurale del polmone. La critica e l'esperimento, se hanno potuto demolire la formula dommatica che di quelle voleva fare un segno specifico della morte per asfissia in genere e della asfissia per soffocazione in ispecie, hanno d'altro lato fornito gli elementi per risalire all'interpretazione del meccanismo genetico del fenomeno che, per verificarsi in conseguenza di momenti etiologici i più dissimili tra di loro, non cessa per questo di avere un valore diagnostico notevolissimo. Ricondotto il significato del fenomeno alla concezione generale della sua patogenesi, se non sarebbe logico, unicamente in vista di esso, il confondere insieme in un gruppo caotico le varie forme morbose nelle quali possono verificarsi le condizioni efficienti di esso, è peraltro lecito il domandarsi il perchè, quando si abbia a che fare con forme cliniche consimili ed omogenee sia per il momento causale, sia per la natura loro, sia per l'in-

(1) Queste ricerche furono eseguite nel Laboratorio di Materia Medica e Farmacologia Sperimentale di Firenze.

timo meccanismo fisiopatologico, in una di esse si abbia la produzione delle ecchimosi viscerali ed in un'altra ciò non avvenga affatto, oppure si verifichi con estrema rarità ed in forma ed aspetto assolutamente differente. Questo è quanto abbiamo occasione di osservare nelle varie forme di asfissia per occlusione meccanica delle aperture e delle vie aeree da un lato, e nell'asfissia per sommersione dall'altro. GIRARD (1) pel primo, poi BERGERON e MONTANO (2), GROSCLAUDE e DESCOUST (3) e via dicendo, dimostrarono esperimentalmente come le ecchimosi sottopleurali e pericraniche *potessero* prodursi anche nella asfissia per sommersione, demolendo la erronea affermazione del TARDIEU (4) il quale pretendeva che negli annegati, per quanto talvolta la congestione e l'ingorgo sanguigno degli organi fossero considerevoli, non si riscontrassero *mai* le ecchimosi sottopleurali e nemmeno gli spandimenti sanguigni sottopericardici e pericranici. Ciò nondimeno le statistiche erano e sono là per dimostrare la estrema rarità del reperto delle ecchimosi sottopleurali nei cadaveri degli annegati; così ad es., stando a quanto dice OGSTON (5), in 200 necroscopie di annegati le si sarebbero verificate soltanto *due volte:* — CASPER e LIMAN (6) le osservarono soltanto in due casi di morte per sommersione; — BELOHRADSKY (7) mai vide ecchimosi sottopleurali nei cadaveri degli annegati, e solo *una volta* in 166 casi osservò delle ecchimosi sottocongiuntivali. HOFMANN (8) non fa cenno di spandimenti sanguigni sotto la pleura e dice di aver veduto solo in via eccezionale delle ecchimosi sotto la congiuntiva e sotto la pelle della faccia; ed anche PALTAUF (9) il quale ha dato alla scienza il suo classico

---

(1) *Journal de médecine de l'Isère*, 1876.

(2) *Recherches experimentales sur la mort par submersion.* (Annales d'Hygiène publique et de médecine légale, 2a serie, XLVIII, 1877.)

(3) Vedi LEGROUX, *Du rôle des ecchymoses sous-pleurales dans la médecine légale.* (Annales d'Hyg., etc., 2a serie, L, 1878.)

(4) *Des signes de la mort par suffocation comparés a ceux de la mort par submersion, par pendaison et par strangulation.* (Annales d'Hyg., etc., IV, 1855.)

(5) *Brit. med. Journal*, Lectures of medical Jurispr., 1878.

(6) *Handbuch.*

(7) *Trattato* del MASCHKA, vol. I, pag. 752.

(8) *Lehrbuch.*

(9) *Ueber den Tod durch Ertrinken.* (Wien, 1888, e Berliner Klin. Wochenschr., 1892, n. 13.)

lavoro sulla morte per annegamento, avrebbe osservato rarissimamente le comuni *ecchimosi asfittiche*. Ma, oltre che estremamente rari, tali spandimenti sanguigni nei cadaveri degli annegati si presentano sotto un aspetto del tutto differente da quello delle ben note punteggiature ecchimotiche, cioè a dire sotto forma di *macchie* o di *placche* più o meno ampie ed estese. Tale fatto, che era stato già osservato da Bergeron e Montano, fu meglio studiato nella sua genesi da Paltauf e più tardi fu confermato da Barberin (1), nonchè da Strassmann (2), il quale peraltro dichiara di averlo osservato assai di rado.

Ma, a parte questa singolarità nell' aspetto delle suffusioni sanguigne sottopleuriche, per poco che si rifletta viene ovvia la dimanda del perchè nella morte per annegamento manchi, o per lo meno sia così estremamente raro un reperto tanatoscopico così comune a tutte le altre specie di morte per asfissia, della quale la morte per sommersione null' altro è che una speciale forma. Tale rilievo non era sfuggito al Corin il quale, negli ultimi tempi, ha studiato con speciale accuratezza e con rigore di metodo sperimentale la produzione delle ecchimosi sottopleurali nelle asfissie acute (3).

Egli peraltro non approfondì l' esame di tale problema, limitandosi soltanto a far cenno di certe speciali condizioni che potrebbero darci il modo di risolverlo. Chi si voglia proporre tale intento dovrà, per procedere razionalmente, mirare ad indagare il modo di comportarsi nell' annegamento di quei disturbi funzionali che rappresentano i fattori genetici delle ecchimosi viscerali, i quali si verificano appunto nelle asfissie e che precipuamente dipendono dall' accumulo del CO_2 nel sangue. Ora, considerando la cosa da un punto di vista generale, noi po-

(1) *De la mort par submersion.* (Arch. de l'Anthropologie criminelle, T. VIII, 1893, pag. 299.)

(2) *Lehrbuch der ger. Medicin,* 1895, pag. 285.

(3) *Recherches sur le rôle de la fluidité du sang dans la génèse des ecchymoses sous-pleurales.* (Archives de Physiologie, XXV, 1893.)— *Sur le mécanisme de la production des ecchymoses sous-pleurales dans l'asphyxie aiguë.* (Ib., XXVI, 1894.) — *Zur Lehre der Erstickungsecchymosen.* (Vierteljahrschr. f. ger. Medicin., 3 Folge, Bd. XI, 1896, H. 1.)

tremmo dire con Pellacani [1] che, per poco che si riconduca il fenomeno anatomico delle suffusioni ecchimotiche in genere alle sue fonti fisiologiche, si vedrà come alla produzione di esso debbano contribuire l'aumento della pressione generale sanguigna, gli aumenti locali della pressione stessa, i disordini del circolo cardiaco-polmonare, le contrazioni generali muscolari, ecc. Si tratta in conclusione di due specie di disordini di funzioni intimamente collegate tra di loro, la *circolatoria* e la *respiratoria*. La importanza di questi momenti genetici delle ecchimosi era stata intraveduta già da tempo: Lukomsky [2] attribuiva la massima importanza alle convulsioni respiratorie, sopratutto quando esse avessero carattere espiratorio; Legroux [3] invece contestava tale fatto e sosteneva che il solo elemento da prendersi in considerazione dovesse essere la elevazione della pressione sanguigna che si osserva in ogni asfissia acuta. Tale modo di vedere è in perfetta armonia con la esperienza ben nota di Coussé, il quale ha dimostrato come diminuendo la pressione sanguigna con un abbondante salasso fatto nel primo periodo dell'asfissia, le ecchimosi in parola non si producano. Peraltro anche l'idea del Lukomsky è tutt'altro che destituita di fondamento, e Corin ha provato con irrifiutabili prove di esperimento come e quanta importanza abbia nella genesi del fenomeno anche il coefficiente respiratorio. L'uno e l'altro di quelli Osservatori, pur essendo nel vero, avevano il torto di pretendere all'esclusività di azione di un solo fattore; perchè di ogni fatto patologico la interpretazione ha da essere sintetica, valutando il simultaneo intervento dei momenti patogenetici i più svariati; tanto è vero che sotto questo punto di vista sarebbe un grave errore il non tener conto mai ed in nessun caso del fatto messo in rilievo pel primo da Krahmer, che cioè l'aspirazione toracica esercitandosi su dei polmoni impenetrabili all'aria possa agire a mo' di ventosa e contribuire alla produzione degli stravasi polmonari.

---

(1) *Fisiopatologia generale delle asfissie.* (Collezione italiana di letture sulla medicina. — Serie III, 1883.)

(2) *Tardieu's Flecke bei Erstickung.* (Vierteljahrschr. für ger. Medicin., N. F., XV, 1870.)

(3) Loc. cit.

Posto che nell'asfissia la genesi delle ecchimosi sottopleurali dipenda dal simultaneo intervento di un aumento della pressione sanguigna e di uno stato di riposo del polmone (Corin), va indagato se nella sommersione entrano in azione dei momenti speciali che modifichino e turbino tali fatti, i quali in definitiva costituiscono la normale reazione dei centri nervosi di fronte al sangue asfittico. Tali momenti Corin li vede negli effetti riflessi della eccitazione cutanea che deve essere molto notevole nell'annegamento, a causa dell'impressione dell'acqua fredda e che deve suscitare dei fatti di inibizione nei centri bulbari; talchè in definitiva, secondo Corin, la ragione dell'assenza delle ecchimosi sottopleurali nella morte per annegamento sarebbe precipuamente da vedersi nel fatto che, in questi casi, la morte avviene per sincope cardiaco-respiratoria.

Questa formula da un punto di vista generale — posso dirlo fin d'ora — contiene del vero; ma nella sua assolutezza è esagerata ed inesatta, perchè si tratta di fatti più complessi di una pura e semplice sincope. Non v'ha dubbio alcuno che vi possano essere dei casi di annegamento nei quali la morte avviene per sincope, sia immediata che consecutiva (Barberin); ma questi casi sono in grande minoranza, non verificandosi, secondo le cifre statistiche di Bergeron e Montano, altro che in proporzione del 12, 5 %. Invece nella grandissima maggioranza dei casi il meccanismo della morte per annegamento è quello classico della asfissia, come stanno a provarlo gli studii fatti sulla capacità respiratoria del sangue degli annegati (Brouardel e Loye) e ad indicarlo la durata media dell'annegamento sperimentale la quale varia dai 3 ½ ai 5 minuti primi, come fu dimostrato dalle esperienze dal Collegio dei Chirurghi di Londra e confermato successivamente dagli altri Osservatori che si occuparono dell'argomento.

Se però ci facciamo a paragonare l'andamento della asfissia per sommersione con quello dell'asfissia per occlusione meccanica delle vie aeree, noi troviamo subito una grande differenza nel contegno della funzione respiratoria nell'uno e nell'altro caso, differenza che fu messa molto bene in luce da Brouardel e Loye, i quali tanto hanno contribuito a schiarire

le nostre idee sulla fisiopatologia dell' annegamento ([1]). Essi dimostrarono con il metodo grafico come l' animale che va a morire per una delle forme comuni di asfissia meccanica, metta in opera volontariamente tutta la sua potenzialità respiratoria, allarghi tutte le parti del suo torace, onde accrescere le forze di aspirazione per attirare l' ossigeno assente. Invece l' animale annegato, in parte volontariamente ed in parte per degli atti riflessi, cerca in tutti i modi di evitare l' ingresso del liquido ambiente nelle vie tracheo-bronchiali. Infatti all' inizio della sommersione il tracciato grafico mostra che l' animale fa uno o due profondi moti ispiratorii (*fase di sorpresa*), poi subito *gli atti meccanici della respirazione si sospendono*, e ciò dura per un minuto: viene poi la *fase delle grandi respirazioni* con arresto dei movimenti generali la quale dura essa pure un minuto, finchè sopravviene la *fase di arresto respiratorio* con perdita della sensibilità. Talchè nella seconda fase, — quella così detta *di resistenza* —, si avrebbe *stato di riposo del polmone* ed *agitazione generale*; due condizioni che dovrebbero favorire la produzione delle ecchimosi sottopleurali, qualora simultaneamente si avesse la contrazione generale, forte e duratura dei vasi sanguigni e la consecutiva *elevazione graduale e notevole della pressione del sangue*, che è il primo effetto dispiegato dal sangue asfittico sul sistema vascolare ([2]). Ora quale è il contegno della pressione sanguigna durante la sommersione? PISEK ([3]) che nello strangolamento aveva osservato degli enormi aumenti della pressione sanguigna, ebbe nell' annegamento dei risultati in parte incerti in parte contradittorî: forse ciò dipendeva dal fatto che egli nei suoi esperimenti non si era messo nelle condizioni reali del fatto pratico, perchè si limitava ad injettare dell' acqua nella trachea. In ogni modo, quando anche aveva verificato un aumento

---

([1]) *Recherches sur la respiration pendant la submersion.* (Archives de Physiologie, XXI, 1889.) — *Recherches sur la circulation pendant l'asphyxie par la submersion.* (Ib.) — *Recherches sur le moment de l'entrée de l'eau dans les poumons des noyés.* (Ib.)

([2]) THIRY, (Centralbl. f. die Medic. Wissenschaft., 1863.)

([3]) *Ueber die feineren Vorgänge am Herzen während des Erdrosselns und Ertränkens.* (Przeglad lekarski, n. 29-38, 1882, e Virchow's Jahresber., 1882, I, 247.)

della pressione, aveva osservato che esso era per lo più lieve — non durando al di là di due o tre secondi — e che d'un tratto la pressione decadeva. BROUARDEL e LOYE vennero in seguito ad i loro esperimenti, alla conclusione che *la pressione costante presenta una tendenza ad abbassarsi* quasi subito dopo la immersione, e che tale abbassamento si fa in modo rapidissimo durante le due ultime fasi dell' annegamento.

Tale condizione di cose, una volta definitivamente assodata, getterebbe una gran luce sul fatto della mancanza delle ecchimosi viscerali nella morte per annegamento, facendo difetto il momento necessario, se non sufficiente, alla loro produzione.

A tale intento ho istituito delle apposite ricerche, perchè le osservazioni di BROUARDEL e LOYE su questo punto non erano complete, come quelle che, per esser fatte in condizioni medie, non tenevano il debito conto delle varie eventualità pratiche nelle quali può verificarsi la morte per annegamento, specialmente per ciò che concerne la temperatura del mezzo liquido ambiente. In un ordine di ricerche, del genere di quelle di cui ci stiamo occupando, l'ideale sarebbe quello di misurare la pressione sanguigna direttamente nel sistema della polmonare; ma, ciò non essendo possibile, perchè di necessità si indurrebbe una grave sorgente di errori nell' andamento del fenomeno che si tenta di riprodurre, conviene limitarsi a studiare la pressione sanguigna generale; sapendosi del resto che il contegno della pressione nel sistema della polmonare si modella su quello della pressione aortica (BRADFORD, DEAN, CORIN).

Ho studiato il modo di comportarsi della pressione sanguigna durante l'annegamento, facendola segnare dalla carotide del coniglio innestata alla cannula del kimografo del Ludwig. L'animale, fermato in posizione supina sulla assicella operatoria ed opportunamente preparato, veniva collocato in una cassetta di latta oblunga, larga 15 ed alta 20 centimetri, e vi era fissato al fondo con dei lacci che legavano la assicella sulla quale esso era situato. Unita la carotide al manometro, facevo scrivere per qualche tempo la pressione normale sul cilindro girante e quindi sommergevo completamente l'animale in tanto d'acqua che ne sorpassasse il muso per un'altezza non maggiore di cinque centimetri, allo scopo di non far risentire alla cannula elastica carotidea gli effetti della pressione di grande quantità di liquido circumambiente. Gli esperimenti furono eseguiti con acqua a differenti temperature (5°, 20°, 24°, 37°) e sopra animali digiuni e che presso a poco si trovavano in eguali condizioni di resistenza organica e di robustezza.

ESPERIMENTO I. — Coniglio rosso del peso di kgr. 3,250. Pressione sanguigna in mm. Hg. = 80. Temperatura ambiente 26°. Sommersione in acqua a temperatura di 24°. L'animale si agita tosto violentemente ed il tracciato grafico della pressione segna un rapido innalzamento di circa 3 centimetri per poi decadere immediatamente di quasi altrettanto, continuando così pel primo minuto a segnare delle oscillazioni distanziate tra di loro e dell'ampiezza di 1-4 centimetri, a prescindere dalle quali la media della pressione costante non oltrepassa i 120 mm. Hg. Un minuto e mezzo dopo l'inizio della sommersione cessa la agitazione, salgono alla superficie libera dell'acqua delle numerose bolle d'aria e la pressione sanguigna comincia ad andare rapidamente decadendo per modo che 3 ½ minuti dopo il momento della sommersione è ridotta a 0. *Necroscopia* (eseguita subito dopo la morte). Reperto dei polmoni caratteristico dell'annegamento (ipervolume): nessuna ecchimosi sia nel distretto della grande che in quello della piccola circolazione. Sangue in parte coagulato nelle cavità del cuore. Stato congestivo degli organi addominali.

ESPERIMENTO II. — Coniglio bianco del peso di kgr. 3,400. Pressione sanguigna in mm. Hg. = 95. Temperatura ambiente 28°. Sommersione in acqua a temperatura di 20.° Agitazione. Nei primi 45″ la linea della pressione presenta i medesimi caratteri di quella ottenuta nell'esperimento precedente, però le oscillazioni presentano una ampiezza molto minore e la media della pressione costante raggiunge soltanto i 114 mm. Hg. Nei 45″ successivi le oscillazioni esprimenti il ritmo cardiaco vanno ancora diminuendo in ampiezza, e la linea complessiva della pressione costante segna un lieve rialzo fino a dare la media di 124 mm. Hg. A tal punto cessa la agitazione dell'animale e la linea della pressione, continuando a presentare delle oscillazioni di meno che un centimetro di ampiezza, va gradatamente declinando, tanto che 2′,15″ circa dopo il momento della sommersione è = 75 mm. Hg. per andar poi a cadere con somma rapidità per modo da trovarsi dopo 3′ della sommersione a 2 mill. dall'ascissa. *Necroscopia* (eseguita subito dopo la morte). Reperto identico a quello del caso precedente.

ESPERIMENTO III. — Coniglio bigio del peso di kgr. 2,900. Pressione sanguigna in mm. Hg. = 98. Temperatura rettale 38°, 3. Sommersione in acqua alla temperatura di 37°. La linea della pressione innalzasi bruscamente fino a 130 per ripiombare immediatamente a 70 e, pure rialzandosi, non raggiunge più la quota che aveva precedentemente alla sommersione, tanto è vero che 45″ dopo il momento di quella la media della pressione costante segna 90 mm. Hg. e va rapidamente ed uniformemente decadendo fino ad essere a — 3, 2′ 15″ dopo la sommersione. L'animale ha avuto una lievissima agitazione durata pochi secondi, ed ha compiuto i moti respiratorii della terza fase dell'annegamento. *Necroscopia* (eseguita subito dopo la morte). Reperto identico a quello dei casi precedenti, tranne i coaguli nelle cavità del cuore.

ESPERIMENTO IV. — Coniglio bigio del peso di kgr. 3,000. Pressione sanguigna in mm. Hg. = 107. Temperatura ambiente = 27°. Sommersione in acqua alla temperatura di 5°. Immediata e violentissima, ma altrettanto rapida agitazione. La grafica va d'un tratto cadendo a picco fino a segnare nei primi secondi una pressione in mm. Hg. = 50. Risale, segnando delle oscillazioni fino ad 80, e rimane per qualche secondo oscillante a quel livello e quindi, dopo aver segnato due ampie oscillazioni con un maximum di elevazione di 105 ed un minimum di 80 (1′ 30″ dopo la sommersione), cade a picco fino quasi all'ascissa, e 2′, 15″ dal momento della sommersione segna — 5. Nemmeno in questo caso è mancata la fase delle grandi respirazioni. *Necroscopia* (eseguita subito dopo la morte). Reperto identico a quello del caso precedente.

Quadro riassuntivo del contegno della pressione sanguigna durante l'annegamento.

	Tempo	Pressione media in mm. Hg.	OSSERVAZIONI
I.	—	80	Prima della sommersione.
	1'	120	Sommersione in acqua a temperatura di 24°. — Fase di resistenza. — Prolungata agitazione dell'animale.
	1',30"	105	Cessa l'agitazione. — Fase delle grandi respirazioni.
	2',15"	60	Insensibilità. — Cessano i moti respiratorii.
	3',00	18	—
	3',45	0	—
II.	—	95	Prima della sommersione.
	45"	114	Sommersione in acqua a temperatura di 20°. — Fase di resistenza. — Agitazione grave.
	1',30"	124	Fase di resistenza e agitazione. — Poi grandi respirazioni e calma.
	2',15"	75	Insensibilità. — Cessano i moti respiratorii.
	3',00"	4	—
	3',45"	— 2	—
III.	—	98	Prima della sommersione.
	45"	90	Sommersione in acqua a temperatura del corpo. — Breve e poco intensa agitazione.
	1',30"	45	Grandi respirazioni. — Poi inerzia ed insensibilità.
	2',15"	— 3	—
IV.	—	107	Prima della sommersione.
	45"	95	Sommersione in acqua a temperatura di 5°. — Violentissima ma breve agitazione.
	1',30"	62	Grandi respirazioni. — Poi inerzia ed insensibilità.
	2',15"	— 5	—

Se analizziamo comparativamente i resultati di queste indagini sperimentali, noi ne possiamo trarre la constatazione di fatti di molto valore. Anche a considerare unicamente le cifre brute od una grafica schematica, si può concludere che, se immediatamente in seguito alla sommersione si ha un rialzo della pressione sanguigna, tale rialzo è *lieve* e *transitorio.* Ma ancora minore è il significato di tale rialzo della media di pressione costante, se si pone mente ad un fatto già segnalato da BROUARDEL e LOYE e che io debbo confermare, cioè a dire al rallentamento in frequenza delle rivoluzioni cardiache ed al consensuale ringagliardimento dell'energia sistolica. Del resto, anche a prescindere da questo coefficiente, di cui pur va tenuto conto nel giudicare dell'andamento della pressione, noi osserviamo subito come nell'annegamento la pressione sanguigna segua un andamento assai differente da quello che essa segue nelle forme di asfissia meccanica; poichè, mèntre in queste la pressione raggiunge il suo *maximum* allorquando il sangue è esageratamente dispnoico, nell'annegamento invece, quando è giunto questo momento, — di cui ci sta ad indicare la insorgenza la fase delle grandi respirazioni, come quella che indica la reazione del centro respiratorio di fronte al sangue asfittico —, noi osserviamo che la pressione è già in decadenza notevole e che questa va rapidamente accentuandosi. Questa diversità di fatti deve evidentemente dipendere dalla diversità del meccanismo inducente l'asfissia, o da una speciale complicanza di momenti e di coefficienti patogenetici nell'uno dei due casi. Infatti nell'annegamento, prima ancora che intervenga l'azione del sangue asfittico, entra in giuoco tutto un insieme di fatti riflessi indotti dall'impressione dell'acqua sulla supeficie del corpo e, più che altro, su delle zone delle vie aeree dotate di massima sensibilità quali sono la mucosa nasale e laringea. Quando l'acqua arriva in contatto di queste regioni, stimola queste *sentinelle della respirazione* (BERT); e, come provoca dei fatti inibitorii sulla funzione respiratoria, analoghi effetti è logico attendersi da parte del cuore. Ciò effettivamente avviene e ce lo indicano i tracciati della pressione ottenuti da BROUARDEL e LOYE e da me, i quali, col mostrarci un rallentamento in frequenza delle ri-

voluzioni cardiache, svelano una azione inibitoria sul cuore evidentemente dispiegata pel tramite del pneumogastrico.

Questo fatto riflesso è della massima intensità quando la sommersione ha luogo nell'acqua fredda, (come nel caso dell'esperimento quarto), perchè in tal caso entra in azione anche la potente stimolazione dei nervi sensitivi della pelle. Parrebbe, a vero dire, che in questa circostanza, per motivo della contemporanea costrizione dei vasi della superficie cutanea, si dovesse ottenere un compenso degli effetti determinati sulla pressione del sangue dalla diminuita frequenza delle rivoluzioni cardiache; e quindi, se non un aumento, si dovesse osservare un mantenimento dell'equilibrio della pressione: ma nel caso della perfrigerazione cutanea, WERTHEIMER(1) ci ha dimostrato come si verifichi un notevole congestionamento delle membra il quale, in ordine alla pressione sanguigna, compensa gli effetti della costrizione dei vasi della periferia. Quando invece l'animale è immerso in un liquido di temperatura omogenea a quella del corpo, sono eliminati, è vero, gli stimoli cutanei, ma la paralisi vasomotoria di origine periferica, indotta dalla elevata temperatura del mezzo ambiente, porta il suo coefficiente allo squilibrio idraulico sanguigno; e non deve sembrare paradossale sotto questo punto di vista il fatto che l'ambiente liquido caldo ed il freddo portino in definitiva gli stessi effetti sulla pressione sanguigna; perchè, identico essendo nei due casi per natura — pur differendo in intensità — il meccanismo inibitorio riflesso iniziale, vi si somma nell'uno e nell'altro un coefficiente di disordine idraulico locale, che soltanto differisce per la sede e per il modo di prodursi, ma che agli effetti pratici ha lo stesso valore.

Talchè si è autorizzati a concludere che nell'annegamento si abbiano nel periodo iniziale, *nella fase di resistenza*, dei fatti di inibizione cardiaco-respiratoria e che al termine di essa, mentre il centro respiratorio reagisce allo stimolo portatovi dal sangue asfittico, il centro vasomotorio rimanga indifferente, ovvero predominino sugli effetti della sua stimolazione

(1) *Influence de la réfrigeration de la peau sur la circulation des membres.* (Archives de Physiologie, XXVI, 1894.)

gli effetti della stimolazione del nucleo del vago, almeno a giudicarlo dal fatto che durante la fase delle grandi respirazioni si ha un rapido e notevole decadimento della pressione sanguigna. Questa nel suo andamento generale mostra una progressiva tendenza ad abbassarsi; chè, se in essa si nota una iniziale elevazione, questa è piccola ed eminentemente transitoria, e non deve intendersi in senso assoluto come l'esponente di un fatto di origine centrale, perchè in parte vi contribuisce il ringagliardimento delle singole azioni cardiache (che può far segnare al tracciato degli scarti tra pressione massima e minima fino di 10 centimetri [Brouardel e Loye]), ed in massima parte poi la grave agitazione nella quale l'animale si trova quando attraversa la così detta fase di resistenza.

Talchè può affermarsi che nella asfissia per sommersione faccia difetto il principale elemento per la produzione delle ecchimosi viscerali (cioè l'aumento forte e duraturo della pressione sanguigna generale) — che si verifica nelle altre forme di asfissia.—Ma, se ben analizziamo la specialità del meccanismo asfittico dell'annegamento in ordine ai possibili aumenti della pressione locale nel sistema della polmonare, noi ci troviamo di fronte ad altri fatti che costituiscono tanti altri elementi, i quali, se non ostacolano, certo non favoriscono la produzione delle ecchimosi sottopleurali. La *aspirazione toracica*, intesa nel senso del Krahmer e del Donders, indubbiamente vi porta la sua parte di contributo nei casi di asfissia di ragione meccanica. Nelle asfissie meccaniche, quando la tensione del CO_2 nel sangue ha raggiunto un certo grado, il centro respiratorio viene eccitato potentemente e ne conseguono dei profondi moti respiratorii; ma, siccome i polmoni sono separati dall'atmosfera da una barriera invincibile, l'effetto della aspirazione toracica sarà quello di richiamare nel cuore destro e nei vasi polmonari il sangue venoso estratoracico e poi più tardi, — quando la pressione in quelli sarà sufficiente, — il sangue stesso nello spessore dei tessuti. Ora ciò non si verifica nell'annegamento, perchè il lavoro meccanico della aspirazione toracica trova più facilità di esplicarsi sull'ambiente liquido esterno; tanto è vero che nel periodo delle grandi respirazioni l'acqua entra a pieno gorgo nelle vie

aeree e va ad agire sulla superficie degli alveoli polmonari, mantenendo l' equilibrio di pressione sulle pareti dei vasi sanguigni. Manca quindi la ragione della produzione di una iperemia *ex vacuo;* e, se vi ha un certo stato di replezione dei vasi polmonari, questo è un fenomeno consecutivo al passaggio in essi del liquido aspirato, il quale può portare una diluzione del sangue anche di $^1/_3$ della massa (BROUARDEL e LOYE-PALTAUF). Certo è che in tali condizioni *gli sforzi espiratorii* potranno aumentare fino ad un certo punto e, puramente in via meccanica, la pressione locale nel sistema della polmonare e favorire così delle isolate rotture vascolari, le quali portano alla produzione di quelli stravasi ampii ed estesi di cui già abbiamo fatto cenno, i quali per genesi e per aspetto nulla hanno a che fare con le comuni punteggiature ecchimotiche verificabili nelle altre forme di asfissia, come quelli che sono unicamente il portato della respirazione spasmodica che aspira e comprime il liquido nei polmoni (PALTAUF).

Altro elemento meritevole di considerazione noi lo troviamo nelle condizioni statiche dei polmoni. A parte le varie teorie emesse per spiegare la genesi del fenomeno, certo è che uno tra i reperti i più costanti della morte per annegamento è lo stato di *iperaeria polmonare* il quale, come è noto, si presenta con i caratteri grossolani dell'enfisema. È cosa omai accertata che i polmoni nello stato di ispirazione sono proporzionalmente meno irrorati da sangue di quello che nol siano nello stato di espirazione, (¹) e che tali condizioni idrauliche si esagerano nell' enfisema polmonare, insegnandoci la Clinica e l'Anatomia patologica come i polmoni enfisematosi, per effetto della obliterazione dei vasi interalveolari, sieno dei polmoni a povera circolazione. Dunque anche di questo elemento va tenuto conto per detrarre qualcosa a quel lieve, locale e parziale aumento della pressione sanguigna nei vasi polmonari, che può derivare dalla replezione dei vasi stessi con parte del liquido ambiente aspirato e dagli sforzi espiratorii.

Ecco quindi da parte del contegno della pressione sangui-

(¹) Vedi PATENKO, *Étude sur l'Asphixie de cause mécanique.* (Annales d'Hygiène, etc., 3ª serie, T. XIII, 1885.)

gna, sia per momenti genetici di indole centrale, sia per effetto di condizioni locali, un insieme di fatti che costituiscono tanti elementi differenziali nelle condizioni della circolazione nelle forme asfittiche comuni di ragione meccanica da un lato e nell'annegamento dall' altro; il che può darci modo di intendere come in questa ultima forma di asfissia facciano difetto le ecchimosi viscerali in genere e quelle sottopleurali in ispecie, nonostante che in questa forma asfittica si verifichi, per ciò che concerne la qualità del sangue, una condizione favorevole alla loro produzione, vale a dire la *fluidità del sangue stesso* (Corin) per effetto della considerevole diluzione che esso subisce.

Vero è peraltro che vi sono dei casi, per quanto rarissimi, di morte per annegamento nei quali sono state osservate delle ecchimosi sottopleurali, ecc., identiche in tutto e per tutto a quelle riscontrate nelle comuni forme di asfissia meccanica. Ciò si riscontra quando l'individuo — e specialmente se in tenera età — restò annegato in un liquido molto denso (liquido amniotico, contenuto delle latrine, ecc., Hofmann [1], Anselmi) [2]. È ovvio comprendere peraltro come in questi casi non si sia più tanto nei termini di un vero e proprio annegamento, quanto di una soffocazione, press' a poco come accade quando dei liquidi o delle materie alimentari semisolide vadano giù per la trachea. A riprova della giustezza di questo modo di vedere si potrebbe addurre il caso recentissimo narrato dal Lamoureux [3] di quel giovane uomo che, affetto da febbre tifoidea durante la quale andava soggetto a frequenti e copiose epistassi, mentre trovavasi alla 21ª giornata di malattia, fu sorpreso nel mezzo della notte da un accesso di soffocazione causato da una nuova rinorragia, pel quale in men che 10 minuti se ne morì. Ebbene, alla necroscopia furon trovate le *taches de Tardieu* in gran quantità sotto la pleura, sotto il pericardio e fino sull'appendice ileocecale. Sta in pieno accordo con questi fatti quanto dice Krah-

---

(1) *Lehrbuch*, 6ª ed., pag. 568.

(2) *Sul valore medico-legale delle ecchimosi in infanti asfittici.* (Giornale di medicina legale, anno II, 1895).

(3) *Mort subite par submersion interne.* (Arch. de l'Anthrop. criminelle, T. XI, 1896, n. 63.)

MER, che cioè nelle asfissie per sommersione la congestione polmonare è tanto più intensa, quanto più denso e meno mobile è il liquido di sommersione; perchè in tali condizioni l'individuo può più facilmente compiere dei tentativi di salvamento, per modo che va annegando lentamente. E allora si rientra nei termini di un lento meccanismo asfittico comune, e si ha l'intensità della congestione polmonare e la produzione delle ecchimosi sottopleurali, fatti questi che sono sempre in diretto rapporto con gli sforzi protratti fatti dall'individuo che è sul punto di sommergersi (BERGERON e MONTANO).

Le cose esposte si possono riassumere nelle seguenti

Conclusioni

1ª Nelle condizioni comuni nelle quali avviene l'annegamento non si verifica quell'elevamento notevole e progressivo e duraturo della pressione sanguigna che si produce nelle forme di asfissia meccanica; che anzi quella, considerata complessivamente, mostra una spiccata tendenza ad andare progressivamente abbassando, dato anche che talvolta si possa notare in essa un lieve e transitorio elevamento iniziale. Quindi nell'annegamento fa difetto la condizione fisica essenziale per la produzione delle ecchimosi sottopleurali.

2ª Gli spandimenti sanguigni che si osservano talvolta sotto la pleura viscerale degli annegati, nulla hanno a che fare in linea genetica con le vere e proprie ecchimosi asfittiche, poichè essi sono il prodotto di una spremitura dei polmoni ingorgati dal liquido di sommersione aspirato ed in parte passato nei vasi polmonari. Tali spandimenti avvengono in una delle ultime fasi dell'annegamento, quando cioè la pressione sanguigna generale trovasi nella fase del massimo decadimento.

3ª Anche da parte delle condizioni statiche dei polmoni e del loro meccanismo funzionale, in quanto l'uno e le altre possono influire sulla piccola circolazione, derivano dai fatti che non favoriscono la produzione delle ecchimosi sottopleurali.

4ª Queste si possono osservare con i comuni caratteri delle ecchimosi asfittiche soltanto allorquando la sommersione sia avvenuta in liquidi molto densi; chè in tal caso, più che a fatti di annegamento, siamo di fronte a dei fatti di lenta soffocazione.

5ª Una conclusione d'indole più generale si può trarre dalle cose dette a conferma dell'affermazione di PERRIN; e cioè che il concetto di *asfissia*, pure rispecchiando un fatto fondamentale unico e semplice, vale a dire *l'arresto degli scambi respiratorii*, non si riferisce ad un'unica individualità fisio-patologica, ma comprende delle condizioni morbose svariatissime nelle loro cause efficienti e modificabili da un insieme di fattori patogenetici nella fenomenologia e nelle alterazioni organico-funzionali che di essa sono il sustrato.

Istituto Anatomico di Firenze, diretto dal prof. G. Chiarugi.

SU ALCUNE ANOMALIE CONGENITE DELL' APPARATO URO-GENITALE

E SUL LORO SIGNIFICATO

PER IL

DOTT. UMBERTO ROSSI

1° Aiuto e libero docente.

(CON FIGURE)

OSSERVAZIONE 1ª. — *Ectopia congenita bilaterale.* (Fig. 1.)

E. B. di anni 60 di professione facchino morto per polmonite. Ambedue i reni si trovano nelle fosse iliache. Il destro situato un po' più alto oltrepassa di un dito trasverso il tratto posteriore della cresta iliaca; misura in lunghezza cm. 8 e cm. 7 ½ in larghezza. Il sinistro invece è a livello del margine della cresta iliaca e presenta uguali diametri. Ambedue hanno forma rotondeggiante. Non posso dire nulla dei loro rapporti con le masse intestinali perchè queste erano state già tolte quando fui chiamato a osservare il caso.

Nel rene destro l'ilo corrisponde al centro della superficie anteriore e si prolunga fino al margine interno; nel sinistro si trova più vicino ai margini interno e superiore ed è allungato in senso verticale. L'aorta a livello del corpo della 4ª vertebra lombare si biforca nelle due iliache primitive; la destra scendendo costeggia il tratto più basso del margine interno del rene; la sinistra è ricoperta direttamente dal rene in prossimità del tratto inferiore dello stesso margine. In avanti corrispondentemente al tratto di biforcazione dell'aorta nasce da essa un tronco lungo circa 2 cm. che si dirige in basso leggermente a destra e si biforca a T. Il ramo destro un po' obliquo in alto penetra nell'ilo del rene corrispondente percorrendolo fin verso il suo centro; l' altro ramo più orizzontale penetra nel rene sinistro verso la metà del margine interno. Indietro del-

l'aorta nasce al solito modo l'arteria sacrale media. Non sembra che altri rami arteriosi si portino ai reni. Il tronco della cava inferiore corrisponde al margine interno del rene destro e rimane da esso un po' coperto. Lo stesso rapporto si mantiene per la vena iliaca destra che rimane al di dietro e leggermente in fuori dell'arteria omonima. La vena iliaca sinistra è discosta dall'arteria iliaca corrispondente di un centimetro circa rimanendo al lato interno di essa. Uguale distanza corre tra detta vena e il rene.

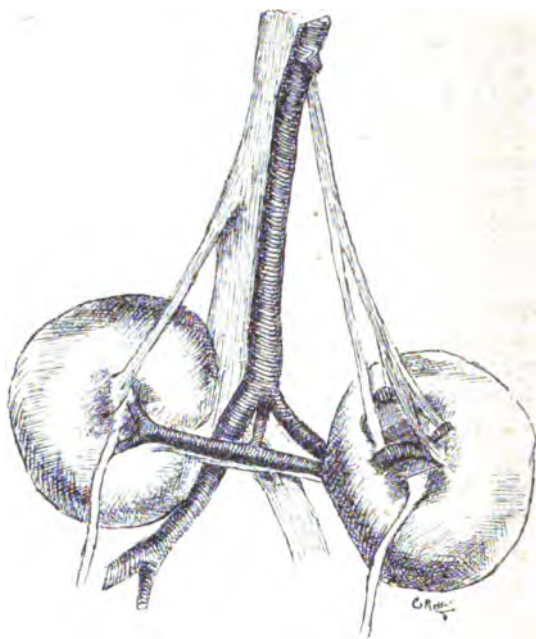



Figura 1.

Da ambedue i reni originano due vene che decorrono parallele alle arterie e si riuniscono in un piccolo tronco che va a sboccare nella vena iliaca primitiva sinistra. Ma i rami venosi principali sono rappresentati per il rene destro da una grossa vena che muove dalla parte più alta dell' ilo a livello della 1ª vertebra lombare e sbocca nella cava ascendente; per il rene sinistro da due vene pure di notevole diametro che originano dalla parte alta dell'ilo, confluiscono dopo un tragitto di circa 8 cm. in un solo vaso che va a immettere nella cava a un livello più alto del prece-

dente. Quanto agli ureteri ambedue nascono dall'estremità inferiore dell'ilo; sono applicati direttamente alla superficie anteriore dei reni e si portano nel bacino al solito modo. Nulla posso dire intorno alla posizione delle capsule surrenali.

OSSERVAZIONE 2ª. — *Rene a ferro di cavallo.*

Maschio adulto di alta statura ben conformato morto per malattia polmonare. Il rene a ferro di cavallo è situato al davanti della colonna vertebrale fra la 3ª e la 4ª vertebra lombare e vi si notano ben distinte una branca trasversa lunga cm. 12 $^1/_2$ e due porzioni ascendenti alte cm. 7 $^1/_2$. Una profonda incisura esiste tra la porzione ascendente di sinistra e la branca trasversa. Degli ureteri il sinistro muove dalla parte più bassa della porzione ascendente e in parte dalla trasversa, all'angolo cioè formato dalle due porzioni e passa al davanti della porzione trasversa. Il destro presso a poco nel medesimo punto ma più verso la porzione trasversa. Le arterie vengono da diversi punti. Due originano al disotto della mesenterica inferiore; la destra è più alta, più lunga e più grossa della sinistra; vanno alle parti più alte delle porzioni ascendenti. Altri due tronchi più piccoli nascono uno accanto all'altro dell'aorta a distanza di 7 cm. dai precedenti e si gettano nella parte di mezzo e superiore della porzione trasversa. Un'altro tronco più piccolo di tutti lungo 5 cm. circa muove dalla iliaca primitiva sinistra e va fino all'angolo fra le porzioni ascendente e trasversa, gettandosi nella prima. Due grosse vene con decorso parallelo alle due arterie prima descritte si staccano dalle parti ascendenti e vanno a gettarsi nella cava. La sinistra è più lunga, più grossa e risulta dalla riunione di vari rami. Altre due vene originano dal margine superiore della branca trasversa e riunisconsi in un tronco unico che sbocca nella cava dopo un breve decorso. Finalmente due sottili rami venosi fuoriescono dal rene in corrispondenza del margine inferiore della porzione trasversa; dopo poco confluiscono e il tronco unico che ne risulta si getta nella cava proprio nel punto in cui essa trae la sua origine dalle due vene iliache.

OSSERVAZIONE 3ª. — *Duplicità del rene destro. Mancanza del sinistro.* (Fig. 2.)

Maschio adulto ben conformato. Apparentemente i reni sono due situati al lato destro della colonna vertebrale uno al disopra dell'altro,

indipendenti e separati da un'ammasso di tessuto adiposo. La porzione superiore ha forma e posizione uguale a quella di un rene normale; misura nel diametro orizzontale cm. 7 e nel verticale cm. 14. L'inferiore si presenta leggermente allungata e poggia sul muscolo psoas estendendosi dal margine inferiore della 3ª al margine inferiore della 5ª vertebra lombare; misura nel diametro verticale cm. 10 e nel trasverso cm. 7. Ambedue le porzioni sono provviste di bacinetti però poco sviluppati; l'uretere che origina superiormente sbocca nel bacinetto inferiore; per cui un solo uretere immette nella vescica. Alla porzione inferiore vanno due arterie.

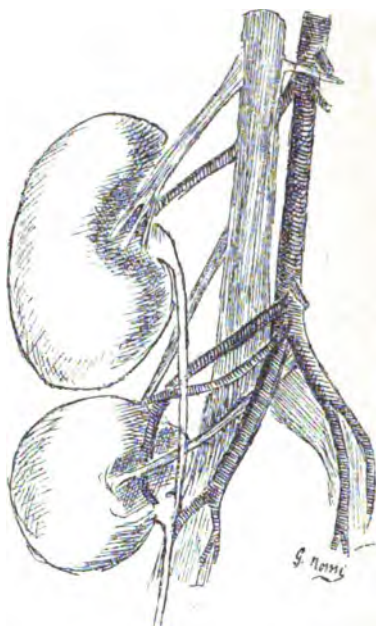



Figura 2.

Una nasce dall'aorta 1 cm. sopra la sua biforcazione; si dirige a destra e in basso descrivendo una curva e raggiunto il margine interno della suddetta penetra nel parenchima. L'altra arteria di calibro minore nasce proprio nel punto di biforcazione dell'aorta; si porta verso destra, incrocia la cava, raggiunge la superficie posteriore della porzione inferiore nella sua parte più alta, si situa in un solco ivi scavato e descrivendo una curva a concavità inferiore raggiunge sulla guida del medesimo solco

il margine destro e di qui penetra nel parenchima renale. Due vene originano presso a poco in corrispondenza dei punti di penetrazione delle arterie. Un tronco venoso anteriore e inferiore si dirige in alto e a sinistra, passa sotto l'arteria iliaca primitiva destra e va a sboccare nella vena iliaca sinistra. L'altro ramo venoso, posteriore e inferiore si porta pure esso in alto e va a gettarsi nella cava ascendente a livello del bacinetto della porzione renale superiore. La biforcazione dell'aorta accade in corrispondenza del margine inferiore della terza vertebra lombare. L'arteria iliaca primitiva destra si divide a livello del promontorio, mentre la sinistra a livello del margine superiore della 5ª vertebra lombare; questa appare anche un po' più voluminosa dell'altra. Chiamato dopo compiuta la necroscopia nulla posso dire riguardo ai rapporti delle due porzioni renali con le masse intestinali e all'esistenza o meno delle capsule surrenali.

OSSERVAZIONE 4ª. — *Ectopia congenita del rene destro.* (Fig. 8.)

U. M. di anni 54. Il rene sinistro è normale per posizione. Misura nel diametro verticale cm. 14 e cm. 7 nell'orizzontale. L'estremo superiore è un po'più slargato dell'inferiore e l'ilo corrisponde al terzo interno della superficie anteriore. Normali le arterie e le vene. Il rene destro di forma ovale è situato nella fossa iliaca corrispondente; poggia sul muscolo psoas e dei suoi estremi il superiore corrisponde al corpo della 3ª e l'inferiore al margine inferiore della 5ª vertebrale lombare. Misura nel diametro verticale cm. 9 e cm. 5 $^1/_2$ nel diametro orizzontale. La superficie posteriore è liscia; l'anteriore è percorsa da solchi con andamento piuttosto irregolare. Di questi, due soli, uno superiore e uno inferiore sono più distinti e vanno da un margine all'altro del rene; tutti impartiscono ad esso un'apparenza lobata. In corrispondenza dei solchi più distinti si trovano due bacinetti alquanto piccoli; il superiore si continua con un uretere il quale dopo un breve decorso va a sboccare nel bacinetto inferiore; da questo trae origine un'altro uretere che, normale nel suo andamento e nei suoi rapporti, si segue fino alla vescica. Quattro arterie vanno al rene originanti tutte dalle superficii anteriore e laterale dell'aorta. Di queste, una soltanto si porta sulla faccia anteriore e vi penetra in corrispondenza della sua parte più bassa; le altre tre raggiungono la superficie posteriore e a vari livelli entrano nel rene. Quattro rami venosi fuoriescono da esso; tre sulla superficie posteriore e nei punti di penetrazione delle arterie; essi si portano tutti in alto e sboccano nella cava a differenti livelli; il quarto che origina presso il margine sinistro del rene, passa al davanti, incrociandola, dell'arteria iliaca primitiva destra e raggiunta la vena iliaca sinistra vi si getta.

Esiste l'arteria sacrale media. Anche in questo caso l'aorta si divideva ad un livello un po' più alto del normale. Devo dire ugualmente che nelle precedenti osservazioni su quanto riguarda i rapporti con le masse intestinali.

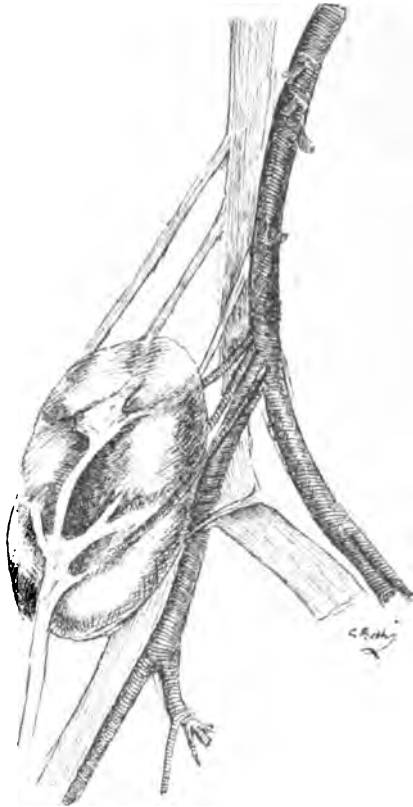



Figura 3.

OSSERVAZIONE 5ª. — *Ectopia congenita del rene sinistro.* (Fig. 4.)

L. M. di anni 38 morta per polmonite doppia. A destra il rene è normale per forma, volume e posizione. Il rene sinistro è situato nella fossa iliaca. Il suo margine convesso corrisponde alla parte media del margine interno dello psoas; l'estremità superiore è a livello del margine superiore dell'ultima vertebra lombare. Ignoti anche qui i rapporti con le masse intestinali. Il suo diametro verticale misura cm. 11; l'orizzontale preso nella

porzione mediana cm. 7. La superficie posteriore è liscia e regolare; l'anteriore è divisa in tre porzioni da due solchi. Il bacinetto appare diviso e le sue due branche emergono in corrispondenza di questi solchi. Dalla riunione di esse trae origine un uretere assai corto e un po' più sottile di quello dell'altro lato.

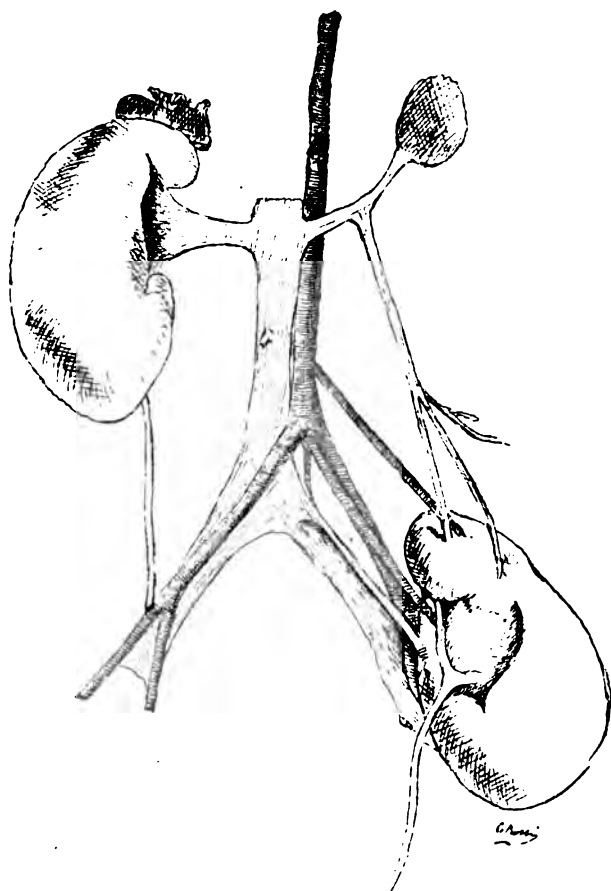



Figura 4.

L'estremo inferiore del rene appare molto arrotondato; al contrario il superiore si presenta come appuntito. Due arterie sono destinate a queste vene e due vene ne fuoriescono. Un'arteria nasce nel punto di biforcazione dell'aorta; presenta un diametro uniforme di mm. 5 e dopo un decorso di cm. 6 $^1/_2$ penetra nell'organo passando dietro la branca superiore

di divisione del bacinetto. L'altro ramo arterioso si stacca dall'aorta 2 cm. sopra la sua biforcazione; ha un diametro presso a poco uguale al precedente, decorre obliquo all'esterno e raggiunta la parte più alta della superficie anteriore del rene penetra nel suo interno. Una vena fuoriesce sul margine interno quasi nel suo punto di mezzo e decorrendo parallela alla prima arteria descritta va a gettarsi nella vena iliaca sinistra. L'altra origina con due branche dalla parte più alta della superficie anteriore del rene; queste confluiscono in un solo tronco che si dirige in alto e va a sboccare nella vena capsulare. L'aorta si biforca in corrispondenza del margine inferiore della 3ª vertebra lombare. La capsula surrenale sinistra occupa la sua posizione normale e si trova al medesimo livello della destra che è adagiata sulla estremità superiore del rene corrispondente.

Osservazione 6ª. — *Mancanza del rene destro consociata a difetto totale dell'ovaio e ovidutto del lato corrispondente.*

M. N. di anni 32 morta con fenomeni uremici. A sinistra il rene ha forma e posizione normale. L'uretere appare dilatato specialmente in corrispondenza del suo terzo inferiore. L'ovaio, l'ovidutto e i ligamenti dell'utero sono normali. A destra non si trova traccia del rene e del suo condotto escretore. Fanno pure difetto l'ovaio e l'ovidutto. L'utero da questo lato presenta una superficie liscia e appare privo di qualunque ligamento. Lungo il margine dello stretto superiore si osserva un cordone biancastro compreso tra due foglietti del peritoneo; inferiormente esso si prolunga fino all'orifizio interno del canale inguinale; superiormente si perde nel connettivo sottoperitoneale. L'utero non ancora completamente involuto (pochi giorni innanzi la donna si era sgravata) misura nel diametro verticale cm. 14 e nel massimo diametro trasverso cm. 7 ½. La parete ha uno spessore di cm. 3. Normale la sua cavità.

La letteratura anatomica è particolarmente ricca di osservazioni che hanno somiglianza maggiore o minore con quelle da me riferite. Pochi autori però, anche tra coloro che si occuparono più di recente dell' argomento, si sono studiati di spiegare la maniera di origine di simili anomalie. Non ne faccio speciale menzione perchè, o illustrarono casi differenti dai miei o perchè le ipotesi emesse non rappresentano che deboli tentativi sui quali non mette conto richiamare l'altrui attenzione. Per conseguenza da un lato la convinzione che non debba mai

essere trascurata la conoscenza di tutto ciò che di anomalo si può riscontrare nei più importanti sistemi dell'organismo umano e dall' altro la possibilità di farci con l' aiuto dell' Embriologia un concetto abbastanza giusto intorno alla genesi di certe deviazioni che si verificano nel corso dello sviluppo, mi hanno persuaso non essere privo di interesse il rendere di pubblica ragione le suddescritte anomalie e di esporre alcune supposizioni che possono essere avanzate per interpretarle. Perchè meglio possa essere compreso quanto andrò dicendo mi è necessario rammentare alcune particolarità relative allo sviluppo del sistema uro-genitale poichè esse dovranno servire di base ai miei ragionamenti. Sono le seguenti:

1° Il rene in un determinato periodo di sviluppo risulta composto di tanti lobi separati l' uno dall' altro da tessuto connettivo in cui decorrono vasi sanguigni. Questa disposizione che impartisce al rene un' aspetto bernoccoluto esiste anche nei primordi della vita extrauterina ed è una condizione permanente in alcuni mammiferi inferiori all' uomo. Solo con l' ulteriore accrescimento dell' organo la sua superficie si fa uniformemente liscia.

2° A un dato momento l' estremo anteriore o craniale del canale renale si dilata subito al di dietro delle sue ramificazioni; contemporaneamente queste si dividono in due gruppi uno superiore e uno inferiore separati da un solco. Si può dare il caso che questo solco si prolunghi fino al punto di origine dell' uretere; allora il bacinetto risultante dalla suddetta dilatazione del canale renale, viene diviso in due porzioni le quali, se per varie ragioni si dilatono considerevolmente fanno credere alla esistenza di due bacinetti distinti. Non è poi molto raro che detto solco possa prolungarsi fino alla vescica ed aversi allora apparentemente per un sol rene due separati apparecchi escretori i quali pure separatamente immettono nella vescica.

3° Le arterie primitive del rene in principio multiple a poco a poco confluiscono in un tronco unico che a perfetto sviluppo e in condizioni normali si ramifica solo in corrispondenza dell' ilo. Queste ramificazioni così vicine all' organo rap-

presentano appunto un ricordo della primitiva disposizione e del primitivo andamento dei vasi.

4° L'ilo è situato primitivamente sulla superficie anteriore del rene.

5° L'embriologia dimostra che nelle prime fasi dello sviluppo esistono rapporti topografici molto intimi tra gli abbozzi del rene, delle tube falloppiane e dell'ovaio.

Stabiliti questi fatti vediamo in qual maniera è possibile sulla loro guida farci ragione delle cose vedute e cominciamo da una delle più comuni vale a dire dalle ectopie congenite uni o bilaterali. Dalle osservazioni mie e da quelle di quasi tutti gli autori che mi hanno preceduto risulta che nei reni ectopici si osservano o tutte insieme o separatamente le seguenti particolarità: Aspetto lobato dell'organo, brevità dell'uretere accompagnata spesso da un calibro minore del normale, l'ilo o gli ili situati sulla superficie anteriore, la molteplicità dei vasi alcuni dei quali hanno una straordinaria lunghezza e una costante direzione obliqua dall'alto al basso e da destra a sinistra o viceversa a seconda del rene ectopico, diminuzione nel volume. Tutte queste apparenze, dico subito, hanno il significato di un'arresto di sviluppo; infatti esse non si riscontrano nel rene normale e a sviluppo perfetto; ma sibbene fanno la loro comparsa soltanto per un determinato periodo dell'accrescimento dell'organo. Ecco ora, a mio parere, il modo di spiegare la genesi delle ectopie. Secondo l'ipotesi che emetto, possiamo ritenere che un perturbamento di una certa intensità, di natura però mal definibile abbia fatto sentire la propria azione sulle varie parti del rene in un determinato periodo del suo sviluppo, provocandovi un disordine e rallentandone notevolmente il suo accrescimento. Accaduto questo fatto si deve essere subito verificata una sproporzione tra l'accrescimento del tronco, l'accrescimento del rene e l'allungamento dell'uretere. Il primo avrà continuato a crescere con la stessa attività; al contrario l'attività di sviluppo delle varie proporzioni della ghiandola renale e dell'uretere in special modo, avrà subito una notevole attenuazione. Per cui venuto meno questo parallelismo, insorta questa sproporzione nella crescenza delle parti indicate,

ad un dato momento il rene si è dovuto trovare ad un livello più basso del normale. In una parola sarebbe accaduto qui ciò che suole normalmente avvenire nella discesa del testicolo la quale, come si sa, deve essere considerata come un fatto dovuto a rapporti di ineguale crescenza fra varie parti, rappresentate dal tronco, dal testicolo e dal *gubernaculum di Hunter*. L'uretere nei casi di ectopia si comporterebbe come il *gubernaculum* nel fenomeno indicato; come cioè alla sproporzione tra l'allungamento del tronco e quello del *gubernaculum* si deve principalmente l'ascendere del tronco intiero sul testicolo per cui questo va sempre più avvicinandosi alla parte più bassa della cavità addominale, così alla sproporzione tra l'allungamento del tronco e quello dell'uretere si dovrebbe il medesimo fatto in seguito al quale il rene ad un dato momento si troverebbe situato assai più basso in confronto alla sua normale posizione. Ammesso questo rallentamento nello sviluppo cui, possiamo pure crederlo possibile, avrà tenuto dietro un'arresto completo, ci diamo facilmente ragione di tutte le caratteristiche che un rene ectopico offre alla osservazione macroscopica e che ho poco sopra enumerate. Esse infatti, come già ho avuto occasione di ricordare, non hanno altro significato che quello di un arresto di sviluppo.

Intesa così la genesi delle ectopie vediamo quale possa essere il significato di quell'anomalia fin qui considerata come coesistenza di ambedue i reni da un lato o dall'altro della colonna vertebrale e che io ho semplicemente indicata col nome di duplicità del rene destro. Non sono, a dir vero, molto numerose le osservazioni consimili registrate nella letteratura anatomica e per lo più gli autori che di queste si sono occupati descrivono bensì due reni esistenti in un sol lato uno al disopra dell'altro, ma fusi più o meno intimamente e non indipendenti e con due apparecchi escretori sboccanti separatamente nella vescica. Riguardo a questa singolare disposizione sembra che fino ad oggi tutti si sieno trovati daccordo nel ritenere trattarsi proprio di due reni o primitivamente abbozzati da un sol lato e saldatisi nel corso ulteriore dello sviluppo, oppure aventi primitivamente la loro normale posizione e trovatisi poi ad essere, per cause ignote, ambedue da un lato, appoggiando l'ipotesi principalmente

sull' esistenza di due bacinetti e di due ureteri distinti e di una indipendente vascolarizzazione. Dal canto mio credo di dovere diversamente interpetrare il fatto e stimo, sieno fusi o indipendenti l' uno dall' altro, trattarsi non di due reni, sibbene di due porzioni appartenenti ad un solo rene completemente o incompletamente separate ed ecco, secondo me, come sarebbero procedute le cose. In simili casi l' abbozzo del rene di un lato è andato incontro a completa atrofia in un periodo assai precoce di sviluppo. L' altro abbozzo per legge di compenso funzionale ha dovuto assumere proporzioni molto grandi. Ora dato appunto questo aumento notevole e ammesso pure l' intervento di qualche causa non determinabile, è facile che un certo numero di lobi, nei quali sappiamo risulta diviso il rene, abbia avuto tendenza a separarsi completamente o incompletamente dagli altri, continuando a crescere e dando luogo alla formazione di un organo avente le apparenze più o meno perfette di un rene. Separatasi una porzione dei lobi e cresciuta indipendente dall' altra è giusto pensare che la separazione si sia effettuata anche sull' apparecchio escretore e sui vasi sanguigni. In conseguenza di ciò ne è risultato un sistema indipendente di vasi per ciascuna porzione renale, e oltre quella del bacinetto è avvenuta la divisione più o meno completa dell' uretere. Nè contro questa ipotesi può stare il fatto che nella maggioranza dei casi si hanno due ureteri ben distinti e separati fino al loro sbocco in vescica, poichè questa disposizione può verificarsi in uno o in ambedue i reni quando anche essi sieno normali nella forma, nel volume, nella posizione, nei rapporti e nella vascolarizzazione.

Poche cose mi restano finalmente a dire relativamente all' ultima delle mie osservazioni cioè al difetto del rene, ovaio e ovidutto del lato sinistro (1). Abbiamo veduto come fino

---

(1) A questo proposito richiamo l'attenzione sulla memoria di Ballowitz, *Ueber angeborenen, einseitigen, vollkommenen Nierenmangel* (Virchow's Archiv f. path. Anat., etc., Bd. 141, Folge XIV, Bd. 1, Heft 2, S. 302). In questo eccellente lavoro si trova una estesa bibliografia. Da essa si ricava che i casi di vera mancanza di un rene registrati fin qui nella letteratura, data pure qualche involontaria omissione, non superano il numero di 250.

dalla loro comparsa sieno in rapporto molto intimo di contiguità, rene, ghiandola genitale ed estremo craniale dei condotti di Müller; ora mi sembra logico ammettere come un grave perturbamento intervenuto durante lo sviluppo possa avere contemporaneamente colpito gli abbozzi dei suddetti organi e abbia in essi determinata una completa atrofia. Nulla ho da aggiungere riguardo al rene a ferro di cavallo poichè quanto è stato fin qui detto relativamente alla sua interpetrazione mi sembra in armonia perfetta con quello che si ricava dalla osservazione specialmente dei casi più tipici quale è appunto il mio.

Sento qui il dovere di porgere le più vive grazie al mio maestro prof. Chiarugi che mi ha fornito i dati relativi alla seconda osservazione e all' egregio prof. Pestalozza, Direttore dell' Istituto ostetrico-ginecologico, che mi ha permesso di studiare l' ultimo caso riferito e che riguarda appunto una donna morta nella sua clinica.

Laboratorio di Fisiologia in Firenze, diretto dal prof. **Giulio Fano.**

I PROCESSI DI OSSIDAZIONE, DI RIDUZIONE E DI SINTESI
NEGLI ANIMALI STIROIDATI.

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

DOTT. VIRGILIO DUCCESCHI

Assistente.

Tra le molteplici dottrine escogitate per assegnare alla ghiandola tiroide il posto che le spetta nel sinergico e coordinato processo di divisione funzionale del lavoro che è in atto nell'organismo animale, una delle più recenti è quella del Horsley. (1) Emessa quando una serie ben stabilita di fenomeni era già raccolta sugli effetti dell'ablazione di quell'organo, essa ha ricevuto dalle osservazioni successive una non lieve conferma.

Secondo la teoria dell'eminente investigatore inglese, l'attività della tiroide sarebbe collegata, come organo a secrezione interna, al metabolismo dei tessuti, ai fatti di nutrizione generale; essa servirebbe alla elaborazione di prodotti intermedî del ricambio, i quali, circolando invariati in seguito all'asportazione della ghiandola, disorganizzerebbero il meccanismo di nutrizione dei tessuti e provocherebbero nello stesso tempo dei processi di autointossicazione.

Tale concetto ha le sue basi su una serie numerosa di osservazioni, delle quali accennerò qui rapidamente solo le principali. È un dato ormai ben stabilito che l'evoluzione anatomica e fisiologica della tiroide segue negli animali lo sviluppo

(1) Horsley, *Remarks on the function of the thyroid gland a critical and historical review.* (Brit. Med. Journ., 1892, n. 1622, a. 1628.)

dell'organismo. Negli individui giovani infatti, quando cioè gli scambi nutritivi dei tessuti sono più attivi, quell' organo presenta la massa maggiore e mostra i segni della funzionalità più viva. Quando l'animale è divenuto adulto, la tiroide tende invece alla involuzione, sino a farsi poi sede di una serie di fatti degenerativi. In relazione a questo rapporto sta il dato, che la tiroidectomia è molto più grave negli animali giovani che negli adulti; del resto anche nell' uomo la cachessia strumipriva sopravviene più facilmente quando lo struma fu estirpato nei primi anni della vita. Non va poi dimenticato che il cretinismo endemico e lo sporadico, legati quasi sempre a lesioni della tiroide, si iniziano costantemente in individui giovani.

Un' altra condizione che lega quell'organo ai fatti della vita vegetativa è che la sua importanza vitale è varia nelle diverse classi animali a seconda del genere di nutrizione. Così mentre i fenomeni della cachessia mancano o si sviluppano assai lentamente nei roditori e nei ruminanti, si presentano sotto una forma moderata negli omnivori, assumono invece un andamento gravissimo nei carnivori. Così pure a seconda della dieta, varia nei diversi animali il quadro della cachessia strumipriva.

Tra i fatti di indole generale che influiscono sugli effetti della tiroidectomia, è da notare anche che uno stato di decaduta nutrizione che preceda l'atto operativo, conduce ad una cachessia rapida e gravissima. Ed alla stessa categoria di fenomeni è da assegnare l'influenza spiccatamente nociva che esercitano le basse temperature sull'animale stiroidato, inducendo esse un metabolismo più attivo.

Ma un contributo maggiore di testimonianze a favore della dottrina del Horsley è fornito da un' altra serie di fatti che conseguono all'ablazione della tiroide. Tra questi è da segnalare il dimagramento notevole degli animali operati, dimagramento sproporzionato certamente allo stato di inanizione progressiva in cui essi cadono, e dovuto verosimilmente ad un disturbo della nutrizione generale. Si aggiungano a ciò le lesioni trofiche sotto forma di disturbi nello sviluppo dello scheletro, congiuntivite ulcerosa, alterazioni del sistema nervoso, dell' apparato digerente, dei reni e modificazioni del sangue. Riguardo a

queste ultime, riporto qui in breve il resultato di alcune ricerche eseguite da me l'anno decorso, che si ricollegano strettamente al nostro argomento.(1) Studiando il comportarsi delle sostanze proteiche del siero del sangue nei cani stiroidati, osservai come nel periodo che segue dappresso la tiroidectomia, quando non complica una serie di altri fatti (stato convulsivo, inanizione, dispnea, ecc.), si abbia un aumento della siero-albumina, dell'elemento verosimilmente plastico del sangue, rispetto alla siero-globulina; questo fatto venne da me interpretato come l'effetto di un rallentamento della attività nutritiva dei tessuti.

Per la forma cronica non v'è chi non riconosca una profonda alterazione degli scambi organici in tutto l'insieme sintomatico del cretinismo e del mixoedema dell'uomo; quest'ultimo avrebbe un dato corrispondente per il quadro rapido della cachessia, nel reperto di mucina nel sangue e nel connettivo sottocutaneo.

Molto importanti per la tesi sostenuta dal Horsley sono le ricerche sul ricambio materiale negli animali stiroidati. Per quanto i resultati sieno ancora oggetto di discussione per quello che riguarda l'eliminazione dell'azoto, è certo che vi è un'alterazione di esso.

Da recenti ricerche del Roos (2) sembrerebbe che si avesse nella cachessia strumipriva una diminuita eliminazione dell'acido fosforico. Gli ultimi lavori del Baumann (3) poi, legherebbero la funzione della tiroide al ricambio dell'iodio nell'organismo. Di non minor valore è il quadro degli effetti che esercita l'estratto di tiroide sugli animali stiroidati e sull'uomo quando essi presentano le diverse forme sopramenzionate di lesioni dello struma. La benefica influenza della medicazione tiroidea, ormai indiscussa, si presenta infatti come un riattiva-

---

(1) Ducceschi, *Sugli albuminoidi del sangue nel cane in rapporto con gli effetti della tiroidectomia.* (Lo Sperimentale, anno XLIX, Sezione biologica, fasc. III, 1895.)

(2) Roos, *Ueber die Einwirkung der Schilddrüse auf den Stoffwechsel nebst Vorversuchen über die Art der wirksamen Substanz in derselben.* (Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XXI, 1895, S. 19.)

(3) Baumann, *Der Jodgehalt der Schilddrüsen von Menschen und Thieren.* (Zeitsch. f. phys. Chemie, 1896, S. 1.)

mento di tutti gli scambi organici, e la sua azione si fa risentire rapidamente sulla emissione dell'azoto, sulla temperatura, sulla eliminazione dell'acido fosforico e dei cloruri (Roos, v. s.) e sulle alterazioni del connettivo. Ed alla stessa azione sul ricambio materiale bisogna riferire l'influenza terapica dell'estratto tiroideo sull'obesità e su certe forme di malattie cutanee a base di decaduta attività funzionale della pelle.

Passati così rapidamente in rassegna i fatti che collegano in modo quasi assoluto la funzionalità della ghiandola tiroide alle attività nutritive dei tessuti, se cerchiamo, sulla guida della dottrina del Horsley, di farci un concetto anche approssimativamente esatto delle funzioni di quell'organo, noi dobbiamo confessare che per essa di ben poco si è dissipata l'oscurità che le avvolge. Dal tubo intestinale al rene è così complesso, così multiforme il meccanismo dei processi nutritivi dei tessuti, tante incognite ha per noi la natura intima delle attività biochimiche di essi allo stato normale, e ancor tante di più ne ha la storia delle alterazioni patologiche, che nemmeno il tentativo di una ipotesi funzionale può germogliare nel campo di fatti di indole generale e così disparati nel loro insieme, che costituiscono la base della dottrina dell'esperimentatore inglese.

È stato mio intendimento quindi, seguendo la traccia segnata dal Horsley, di accingermi allo studio delle condizioni del ricambio nutritivo dei tessuti nell'animale stiroidato. Mi è sembrato necessario, per procedere metodicamente, di cominciare dallo studio delle attività generali del metabolismo, da quelle funzioni cioè intorno alle quali si raggruppa un insieme sinergico e coordinato di processi chimici per cui l'organismo provvede alla conservazione dei propri tessuti, dai quali trae l'origine del calore, del lavoro e di tutte le altre manifestazioni della vita, e per cui elabora ulteriormente i prodotti di rifiuto.

Nell'organismo, riducendo il meccanismo della circolazione degli elementi alla rappresentazione più semplice e più schematica, si devono necessariamente distinguere: — dei fatti di indole integrativa, formativa, per i quali i tessuti si accrescono e restaurano le loro perdite traendo i materiali dal *pabulum* che l'intestino appresta, nella forma più semplice, in-

sieme di attività, queste, che rappresentano verosimilmente una *sintesi;* — dei fatti di indole disintegrativa, dissimilativi, che sono il resultato dell'attività funzionale dei tessuti, che si compiono nella cellula, al di fuori dell'intervento dell'ossigeno, e che possono concepirsi come processi di *riduzione;* — dei fatti per cui i prodotti complessi che la cellula elabora sono ulteriormente trasformati, semplificati, resi atti alla eliminazione, per una serie di fenomeni successivi che noi siamo avvezzi a considerare come fatti di *ossidazione.*

In questi tre ordini di attività biochimiche è riassunta in una formola molto elementare una serie svariatissima di atti che si compiono nella più interna trama del nostro organismo, atti che assumono proprietà specifiche da organo ad organo, da tessuto a tessuto, il meccanismo intimo dei quali ci sfugge, e di cui noi possiamo prendere in esame quasi solo gli effetti dinamici ed i prodotti chimici finali. Di queste tre funzioni doveva io rendermi conto prima di procedere a ricerche più speciali sulle condizioni del ricambio negli animali stiroidati.

Per lo studio delle attività nutritive generali dei tessuti, i metodi oggi in uso consistono nell'osservare il modo di comportarsi dei prodotti ultimi del metabolismo, e più specialmente di alcuni, oppure nel vedere quali trasformazioni finali subisca una sostanza che venga a tale scopo introdotta nell'organismo. Si comprende come questi metodi, ed il secondo in specie, ci rendano solo conto del modo di contenersi di quella data sostanza, o di quel gruppo di prodotti, che sono oggetto della nostra osservazione, o al più dei composti affini. Ma è tanto complesso il meccanismo degli atti chimici dei nostri tessuti, sono così molteplici e variati i prodotti di combinazione che vi prendono parte, che comportandoci in tal guisa noi non possiamo avere che delle nozioni rudimentali sul modo con cui quei processi chimico-biologici si compiono nella loro complessa integrità. Ad ogni modo però, per quanto spesso unilaterali nel loro significato, tali metodi di indagine ci hanno fornito preziosi concetti sulla natura dei processi elementari di scambio dell'organismo. Non sto qui a rifare la storia dei lavori compiuti in quest'ordine di ricerche per non

deviare troppo dal concetto del presente contributo sperimentale, e perchè ogni manuale di chimica biologica ne tratta in modo abbastanza diffuso. Passo perciò ai metodi di investigazione dei quali mi son giovato nelle mie indagini.

Lo scambio degli elementi nei tessuti può essere una sorgente capitale di autointossicazione quando esso avvenga tumultuariamente, o quando esso sia in qualche guisa incompleto o modificato, così la fatica, lo strapazzo fisico e morale, l'insolazione ed una serie di malattie a decorso lento (gotta, diabete, ecc.), sono tutte forme di autointossicazione da disturbo del ricambio materiale. L'autointossicazione — e che essa abbia la sua parte negli effetti che seguono alla tiroidectomia è un concetto ormai stabilmente acquisito — è, fra i disturbi del metabolismo organico, più notoriamente legata ad un difetto dei processi di ossidazione. Per questo difetto due ordini di funzioni sono lese; l'elaborazione dei prodotti di regressione si fa in modo più o meno imperfetto, ed entrano così in circolo delle sostanze quasi sempre tossiche, e d'altra parte difettando l'ossigeno la cellula tende alle necrobiosi essendo essa lesa nelle sue facoltà assimilatrici. Era quindi per me della più grande importanza il portare la massima cura nello studio dei processi di ossidazione.

Per indagare lo stato di tali attività nel cane stiroidato, mi sono servito di due metodi. Ho osservato in una serie di casi il modo con cui veniva eliminato il solfo nelle orine: è noto che esso viene espulso sotto due principali forme, cioè come solfo completamente ossidato, o solfo acido, e come solfo incompletamente ossidato o solfo neutro. La prima porzione comprende i composti dell'H_2SO_4 col sodio, potassio, magnesio e calcio (*acido solforico preformato*, di Baumann) ed i derivati dell'unione dell'acido solforico con l'indolo, fenolo, ecc. (*acido solforico accoppiato* o *coniugato*). Il solfo neutro comprende una serie di sostanze la cui natura non ci è ancora del tutto nota: fanno parte di esso la taurina, la cistina ed i sali dell'acido solfocianico.

I rapporti tra questi tre gruppi di composti dello solfo rappresentano dei dati molto variabili allo stato normale, an-

che al di fuori di circostanze che possano influenzarne visibilmente l'eliminazione. Le differenze più notevoli si hanno da individuo ad individuo; viene in seconda linea la dieta a dare le maggiori variazioni. Per il cane le cifre trovate da diversi autori danno un rapporto del 28-40 °/₀ per il solfo neutro, in relazione alla quantità totale del solfo eliminato; la differenza è data dall' H_2SO_4; di questo $^1/_{10}$ circa è unito all' indolo, fenolo, ecc.

È dalle scuole del Baumann e del Salkowski che è uscita la serie più numerosa e più importante di lavori sulla eliminazione dello solfo per le orine; solo in questi ultimi anni però si è svolto, dall' ingente materiale di fatti pazientemente raccolti, il concetto funzionale che lega il rapporto tra solfo acido e solfo neutro ai processi delle ossidazioni organiche. Questo concetto trovò in Italia estesa applicazione, in specie dal lato clinico, per opera del Reale e Velardi (1).

Per la determinazione delle due varietà di solto mi sono servito dei noti metodi di Salkowski. Ho stabilito in 50cc. di orina la quantità del solfo totale, mentre ricercavo in altri 50cc. di essa l' H_2SO_4 totale. Detraendo questo secondo valore dal

(1) Cito qui i principali lavori sulla eliminazione dello solfo nell' organismo animale:

SALKOWSKI, *Ueber die Entstehung der Schwefelsäure und das Verhalten des Taurins in thierischen Organismus.* (Virchow's Archiv., LVIII, 1873.)— ID., *Ueber die quantitative Bestimmung der Schwefelsäure in Harn.* (Zeitschr. f. phys. Ch., Bd. X, S. 346, 1886.) — BAUMANN, *Ueber gepaarte Schwefelsäuren in Organismus.* (Pflüger's Archiv., Bd. 13, S. 285-1876.) — GOLDMANN und BAUMANN, *Zur Kenntniss der Schwefelhaltigen Verbindungen des Harns.* (Zeitschr. f. phys. Ch., XII, S. 254, 1889.) — KUNKEL, *Ueber den Stoffwechsel des Schwefels in Säugethierkörper.* (Pflüger's Archiv., Bd. 14, 1877.) — REGENSBURGER, *Ueber die Ausscheidung der Schwefel in Harn, etc.*, (Zeitschr. f. Biologie, XII, 1876.) — PRESCH, *Ueber das Verhalten des Schwefel in organismus, etc.* (Virchow's Archiv., 119.) — LEPINE et GUERIN, *Sur la provenance du souffre difficilement oxydable de l'urine.* (Compt. rend., XCVII, pag. 1074, 1884.) — KEN TANIGUTI, *Ueber den Einfluss der Alkalien auf die Oxydation im Organismus.* (Virchow's Archiv., CXVII, 581-586.) — RUDENKO, *Ueber das Verhalten des neutralen Schwefels bei Stoffwechselstörungen und über die Oxydation desselben im thierischen Organismus.* (Virchow's Archiv., Bd. CXV, S. 102.) — REALE e VELARDI, *Sull' eliminazione dello solfo neutro per le orine e sul suo valore semiologico nelle alterazioni del ricambio materiale.* (Arch. Italiano di Clinica Med., anno XXXIII, 1894, puntata I, pag. 66.) — SANELIEFF, *Ueber den Einfluss des Eiweisszerfalles auf die Ausscheidung des neutralen Schwefels.* (Virchow's Archiv., 1894, Bd. CXXXVI, pag. 195.)

Altri lavori sullo stesso argomento sono citati nel seguito delle presenti ricerche.

primo ottenevo il contenuto in solfo neutro di 50cc. d'orina. Questi valori, erano riportati alla quantità d'orina eliminata nelle 24 ore. Solo quando il materiale di analisi era scarso ho fatto la determinazione del solfo neutro dal filtrato dell'orina in cui era stato ricercato il solfo acido.

Il secondo metodo di cui mi sono valso per determinare il grado delle ossidazioni organiche nel cane operato di tiroidectomia, consisteva nell'osservare quanto del fenolo introdotto nell'organismo venisse ossidato, prima e dopo l'operazione. Per la ricerca del fenolo non ossidato emesso con le orine, mi sono servito del metodo di Messinger e Vortmann [1], che dopo il controllo a cui lo hanno sottoposto Kossler e Penny [2] e tenendo conto delle modificazioni che questi ultimi AA. vi hanno introdotto, mi è sembrato preferibile al procedimento generalmente usato di titolazione come tribromofenolo. La determinazione si fa nel modo seguente: la quantità giornaliera d'orina viene ridotta con l'evaporazione lenta al calore, in reazione leggermente alcalina, ad un $^1/_5$ del suo volume; si aggiunge al liquido tanto H_2SO_4 che esso arrivi a contenerne il 5 $^o/_o$ circa della quantità originaria e si distilla. La distillazione deve esser ripetuta tante volte, aggiungendo sempre acqua stillata, finchè il distillato, raccolto a parte nelle ultime porzioni, mostra alla titolazione quantità minime o nulle di fenolo; in generale bastano 5 o 6 distillazioni. Ogni singola porzione viene neutralizzata con carbonato di calcio e quindi di nuovo distillata. Il liquido ora raccolto è adatto alla titolazione. A questo scopo il prodotto della distillazione od una determinata parte di esso vien posta in una bottiglia chiusa diligentemente con tappo di vetro, vi si aggiunge della soluzione $^1/_{10}$ N. di soda scevra da nitriti sino a reazione alcalina abbastanza forte, e si lascia a lungo su un bagno-maria. Al liquido caldo si aggiungono quindi 15–25 cc. di soluzione $^1/_{10}$ N. di jodio, si chiude tosto il vaso e si scuote. Si ripone il liquido a bagno-maria per alcune ore, finchè cioè il

---

(1) MESSINGER und VORTMANN, *Ber. d. deuts. chem. Gesell.*, Bd. 22, S. 2313, 1889.

(2) KOSSLER und PENNY, *Ueber die massanalytische Bestimmung der Phenole in Harn.* (Zeitschr. f. phys. Chem., 1892, Bd. XVII, H. 2-3, S. 117.)

precipitato è completo, si acidifica son soluzione $^1/_{10}$ N. di H_2SO_4 e si titola nella stessa bottiglia con una soluzione $^1/_{10}$ N. di tiosolfato di soda. Le quantità di jodo legate ai diversi distillati si addizionano, ed il totale rappresenta l'jodo consumato dal fenolo per la formazione dei derivati di sostituzione dei trijodofenoli. Un cc. della soluzione $^1/_{10}$ N. di jodo legatasi rappresenta mmgr. 1.567 di fenolo o mmgr. 1.8010 di cresolo; siccome però questo secondo prevale nell'orina, è col valore ad esso corrispondente che si calcola la quantità totale del fenolo.

Per farmi un concetto dello stato dei processi di sintesi nel cane stiroidato, ricercai il modo di comportarsi dell'unione dell' H_2SO_4 che si forma nell' organismo col fenolo iniettatovi. Gli eteri solforici che ne derivano erano determinati col noto motodo di Salkowski. La ricerca si faceva su 75 cc. d' orina; solo nel caso che disponessi di poco materiale di esame ne adoperai una quantità minore, ma ciò avvenne assai raramente.

Per i fatti di riduzione mi sono servito del metodo di Ehrlich (¹), della introduzione cioè del bleu d' alizarina nel sangue sotto forma di sale solubile di soda, durante la vita. Le modificazioni di intensità del color bleu caratteristico nei varî organi messi allo scoperto poco tempo dopo l' iniezione, ci permettono di determinare con la semplice ispezione il potere riduttore, idrogenante, di ciascun tessuto. Tenni conto anche della attività riduttrice postmortale, che rappresenta forse un funzionamento residuale postumo dei tessuti. Questo metodo ingegnoso e semplice ci dà esso pure solo un concetto approssimativo delle attività biochimiche che esso deve svelare; i suoi resultati sono soggetti a molte varianti legate sopratutto alle differenze individuali, allo stato funzionale degli organi, alla età del soggetto. Tenendo però conto di queste condizioni, si può trarre dal metodo di Ehrlich delle nozioni molto interessanti sullo stato dei poteri di riduzione dell' organismo.

Riassumerò ora brevemente, in altrettanti quadri sintetici, le esperienze che ho condotto sul cane seguendo l'ordine d'idee del quale ho tenuto parola.

(¹) Ehrlich, *Das Sauerstoff-Bedürfniss des Organismus*. Berlin, Hirschwald, 1885.

Esperimento N. 1. — Cane da caccia del peso di Kg. 14.200.

Data	Peso dell' animale	Quantità dell' orina	Peso specifico	Solfo totale	Solfo neutro	H_2SO_4 totale	H_2SO_4 accoppiato	Solfo neutro % rispett. al Solfo totale	Rapporto dell'H_2SO_4 accoppiato al preformato	Altri caratteri delle urine	Osservazioni
1896 29 Gen.	Kg. 14.200	cc. 340	1015	gr. 1.0858	gr. 0.3342	gr. 0.7516	gr. 0.0652	30.6	1 : 11.5	Non albumina nè zucchero. Pigmenti biliari assenti.	Si somministrano all'animale 400 gr. di pane e circa 500 cc. d'acqua giornalmente.
1 feb.	14.270	410	1010	0.9167	0.2936	0.6231	0.0741	32.0	1 : 8.2		
4 »	14.320	420	1009	1.0344	0.3432	0.6912	0.0511	33.0	1 : 18.5	Non albumina nè zucchero. Lievi traccie di pigmenti biliari.	Si asportano ambedue le tiroidi previa narcosi cloroformica.
5 »	14.200	340	1020								
6 »	14.020	385	1022	.....	.....	.....	....	....	....	....	Ieri ed oggi il cane è stato bene; ha mangiato con appetito. La ferita al collo è in buone condizioni.
7 »	13.830	145	1036	1.1857	0.3865	0.7992	0.0497	32.5	1 : 16.0	Non componenti anormali nelle orine.	L'animale è depresso, ha prurito intenso al muso, ha fotofobia. Traballa un poco.
8 »	13.590	170	1041	.....	.....	.....	....	....	....	....	Le condizioni generali si sono aggravate. L'animale rifiuta il cibo. Ha tremore vivo, dispnea, rigidità degli arti.
9 »	13.120	160	1045	1.3413	0.4493	0.8920	0.0450	33.5	1 : 19.7	....	Stato generale simile a quello di ieri, ma piuttosto aggravato. Seguita il rifiuto del cibo.
10 »	12.890	180	1043	.....	.....	.....	....	....	....	....	Condizioni simili a quelle del giorno precedente. L'animale ha mangiato pochissimo.
11 »	12.600	300	1035	1.2317	0.4212	0.8105	0.0412	34.2	1 : 19.6	Lieve opacamento albuminoso. Non zucchero. Traccie di pigmenti biliari.	Il cane muore tra fenomeni generali di collasso, in coma. Alla *Necroscopia*. Ferita al collo completamente rimarginata. Non tiroidi accessorie. Niente di rimarcabile al cervello; polmone, fegato e tubo digerente un po' congesti.

Esperimento N. 2. — Cagna pomerana del peso di Kg. 4.850.

Data	Peso dell'animale	Quantità dell'orina	Peso specifico	Solfo totale	Solfo neutro	H_2SO_4 totale	H_2SO_4 accoppiato	Solfo neutro °/o respett. al Solfo totale	Rapporto dell'H_2SO_4 accoppiato al preformato	Altri caratteri delle orine	Osservazioni
1896 15 Mar.	Kg. 4.850	cc. 310	1011	gr. 0.3246	gr. 0.1298	gr. 0.1918	gr. 0.0178	40.0	1 : 10.9	Non albumina. Non zucchero.	La cagna riceve giornalmente cc. 400 di latte e gr. 100 di pane.
16 »	4.820	320	1009	0.4406	0.1655	0.2751	0.0216	37.6	1 : 12.6		
19 »	4.790	380	1011	.....	.....	.....	....	....	....	....	Si procede alla Tiroidectomia.
20 »	4.640	....	...	.....	.....	.....	....	....	....	....	Verso sera la cagna è stata assalita da dispnea vivissima e da scosse convulsive.
21 »	4.530	....	...	.....	.....	.....	....	....	....	....	Le condizioni generali sono migliorate. L'animale si alimenta.
22 »	4.440	320	1020	0.3981	0.1564	0.2417	0.0221	39.3	1 : 10.9	Nessun componente anormale nelle orine.	Convulsioni generalizzate. Trisma, dispnea grave; la cagna rifiuta il cibo e la bevanda; il latte introdotto con la sonda vien tosto rigettato.
23 »	4.350	....	...	.....	.....	.....	....	....	....	....	Condizioni invariate.
24 »	4.220	185	1035	0.5480	0.2219	0.3261	0.0181	40.5	1 : 18.0	Non albumina nè zucchero.	Lo stato generale va facendosi sempre più grave. La dispnea e lo stato convulsivo sono quasi continui. La cagna è in condizioni di completa inanizione.
25 »	4.100	48	1060	0.5086	0.2186	0.2900	....	42.8	....	....	Condizioni simili a quelle del giorno precedente. Il mattino del 26 la cagna si trova morta. Alla *Necroscopia* non tiroidi accessorie. Ferita al collo in via di guarigione.

Esperimento N. 3. — Cane pomerano del peso di Kg. 7.150.

Data	Peso dell' animale	Quantità dell' orina	Peso specifico	Solfo totale	Solfo neutro	H_2SO_4 totale	Solfo neutro % rispett. al solfo totale	Altri caratteri dell' orina	Osservazioni
1896 4 Aprile	kg. 7.150	cc. 280	1009	gr. 0.3008	gr. 0.0956	gr. 0.2052	31.8	Non albumina nè zucchero.	Il cane riceve giornalmente gr. 250 di pane e cc. 300 di acqua.
8 »	....	275	1011	0.2886	0.0958	0.1928	33.2		
11 »	7.100	360 (orina di 36 ore)	1012	0.4854	0.2035	0.1819	32.6	....	Si asportano le tiroidi previa cloronarcosi.
12 »	7.030	315 (orina di 36 ore)	1010	0.6281	0.2088	0.4198	32.8	....	Il cane è leggermente abbattuto. Ha preso pochissimo cibo. Ha corizza.
14 »	6.790	260	1014	0.7841	0.2618	0.5223	33.4	Nessuna alterazione nei componenti dell' orina.	Depressione notevole. Leggiero tremore, fotofobia; il cane si mostra molto timoroso.
15 »	6.670	245	1018	0.5911	0.2015	0.3896	34.1	....	Condizioni simili a quelle di ieri; l'animale non prende quasi affatto cibo.
17 »	6.600	....	....	....	....	......	....	....	Stato generale invariato.
18 »	6.560	280	1009	0.4259	0.1437	0.2822	33.5	Opacamento albuminoso lievissimo. Non zucchero.	Condizioni solite; seguitano la depressione, il tremore; vi è forte prurito al muso. L'alimentazione è quasi nulla.
19 »	6.630	....	....	....	....	......	....	Non albumina.	Il cane sta meglio, ha ricominciato a mangiare. I fenomeni accennati vanno scomparendo.
21 »	6.750	....	....	....	....	......	....		Il miglioramento continua.
23 »	6.780	260	1011	0.3275	0.1004	0.2191	32.8	Nessun componente anormale nelle orine.	Il cane si trova in condizioni perfettamente normali. Mangia con appetito.
3 Giugno	7.030	....	....	....	....	......	....	....	Il cane è stato sempre bene, in tali condizioni da non potersi distinguere da un individuo normale. Si sacrifica. Alla *Necroscopia* si rinvengono, a destra nel cellulare avvolgente la loggia che comprendeva la ghiandola tiroide, ed a sinistra vicino alla biforcazione della carotide, due noduletti della grossezza di una lenticchia, di tessuto simile a quello della ghiandola tiroide.

Esperimento N. 4. — Canina pomerana giovanissima del peso di Kg. 2.320.

Data	Peso dell'animale	Quantità dell'orina	Peso specifico	Eteri solforici	Fenolo iniettato	Fenolo eliminato	Altri caratteri delle orine	Osservazioni
	kg.	cc.		gr.	gr.	gr.		
1895 23 Dicembre	2.320	340	1009	0.0110	0.025	....	Non albumina, non zucchero.	L'animale riceve giornalmente, in due volte, cc. 350 di latte.
24 »	2.310	280	1011	0.0238	....	0.0158		
25 »	2.340	330	1010	0.0129	....	....	Non fenolo nelle orine.	
26 »	2.310	180	1012	....	0.050			
27 »	2.330	360	1010	0.0432	....	0.0314		
28 »	2.300	300	1011	0.0098	....	....	Non fenolo nelle orine.	
29 »	2.290	310	1009	....	....	....	....	Si procede alla tiroidectomia, previa narcosi cloroformica.
30 »	2.250	290	1013	....	....	....	Non albumina, non zucchero.	La cagna sta abbastanza bene; è come al solito, vivace. Ha però qualche segno di corizza.
31 »	2.200	300	1011	....	0.025	....	....	L'animale è depresso, ha corizza intensa, il pelo si è fatto irto e ruvido. Non scosse muscolari nè dispnea. Seguita a nutrirsi.
1896 1 Gennaio	2.110	275	1015	0.0193	....	0.0145	....	La cagna si alimenta pochissimo, è molto inquieta ed abbattuta. Localmente sta bene.
2 »	1.978	270	1015	0.010	....	....	Non fenolo nelle orine.	Condizioni solite. Si nota di più rigidità degli arti posteriori e barcollamento.
3 »	1.890	220	1018	....	0.050	....	Non albumina nelle orine.	È sopraggiunta una discreta dispnea. Il latte si somministra con la sonda.
4 »	1.720	180	1026	0.0375	....	0.0346	....	Condizioni generali leggermente migliorate. Dispnea ancora notevole, e disfagia spiccata.
5 »	1.650	230	1016	0.091	....	....	Non fenolo nelle orine. Opacamento albuminoso. Non zucchero.	L'animale continua a migliorare; è però molto istupidito.
6 »	1.630	60 (?)	.....	....	....	....	....	Lo stato generale si aggrava di nuovo, e l'animale muore in giornata. Alla *Necroscopia*, ferita al collo in via di guarigione. Non tiroidi accessorie.

Esperimento N. 5. — Piccolo cane bastardo del peso di Kg. 6,340.

Data	Peso dell' animale	Quantità dell' orina	Peso specifico	Solfo totale	Solfo neutro	H_2SO_4 totale	H_2SO_4 accoppiato	Solfo neutro % del totale	Fenolo iniettato	Fenolo eliminato	Altri caratteri delle orine	Osservazioni
1896 14 Apr.	kg. 6.340	cc. 380	1015	gr. 0.3881	gr. 0.1600	gr. 0.2280	gr. 0.0377	41.5	0.15		Non albumina nè zucchero.	Si somministrano giornalmente all'animale gr. 800 di pane e cc. 350 di acqua.
15 »	6.290	285	1014				0.1069			0.0986		
16 »	6.180	300	1015	0.3527	0.1417	0.2110	0.0319	40.2	0.30		Non fenolo nelle orine.	
18 »	6.260	625 (orine di 48 ore)	1012				0.3062			0.2185	Orine carbol.	
19 »	6.220	225	1015								Non fenolo nelle orine.	Si opera di tiroidectomia previa cloronarcosi.
20 »	5.930	190	1025	0.4187	0.1766	0.2421	0.0347	39.8	0.15			Il cane presenta spasmi clonici in tutti i muscoli del tronco. È molto abbattuto, ha dispnea viva.
21 »	5.710	335 (orine di 48 ore)	1026				0.0911			0.1005		L'animale sta meglio ma è molto depresso. Si nutre pochissimo. Ha spasmi lievi ed isolati. La dispnea è scomparsa.
22 »	5.500	185	1025						0.25		Non fenolo nelle orine. Non album.	Oggi vi sono stati diversi attacchi convulsivi, generalizzati. Dispnea viva. Il cane non mangia affatto.
23 »	5.350	300	1012	0.5307	0.2260	0.3047	0.2156	42.6		0.2067	Non albumina. Non zucchero.	Il cane è in condizioni molto gravi. Nei giorni precedenti non ha mangiato quasi affatto, oggi ha mangiato un poco. Ha tremore continuo e si regge appena sulle gambe.
24 »	5.225											L'animale si trova in uno stato gravissimo; si sacrifica per la prova dell'Ehrlich. Alla *necroscopia*, non tiroidi accessorie; la ferita al collo era in via di guarigione.

Esperienza N. 6. — Cane bastardo del peso di kg. 10.840.

Data	Peso dell' animale	Quantità dell' orina	Peso specifico	Solfo totale	Solfo neutro	H_2SO_4 totale	H_2SO_4 accoppiato	Solfo neutro °/o relativ. al totale	Fenolo iniettato	Fenolo eliminato	Altri caratteri delle orine	Osservazioni
1896 17 Apr.	kr. 10.840	cc. 825	1016	0.6132	0.2256	0.3876	0.0377	86.8	0.20	......	Non albumina, non zucchero. Pigmenti biliari lievi traccie.	Si somministrano giornalmente al cane gr. 350 di pane e cc. 400 di acqua.
18 »	10.860	375	1012	......	......	......	0.1455	......	....	0.1176		
20 »	10.750	340	1014	......	......	......	......	......	0.40	......	Non fenolo nelle orine.	
21 »	10.810	295	1020	......	......	......	0.2896	......	....	0.2258		
22 »	10.850	275	1024	0.6483	0.2411	0.4072	0.0499	87.2	....	......	Non fenolo nelle orine.	
27 »	10.820	......	....	......	......	......	......	......	....	......	......	Il cane si opera di tiroidectomia.
28 »	10.740	perdute	....	......	......	......	......	......	....	......	......	Il cane sta poco bene, ha dispnea.
29 »	10.420	310	1020	0.6786	0.2569	0.4277	0.0322	87.0	0.20	......	Non albumina.	Dispnea viva. Scosse convulsive toniche e cloniche. Tremore. Il cane non si alimenta.
1 Magg.	10.160	225	1028	......	......	......	0.1272	......	....	0.1204	......	I fenomeni si sono un po' attenuati, ma il cane seguita a non volersi cibare.
2 »	9.890	140	1027	0.7286	0.2724	0.4562	0.0432	37.4	0.40	......	......	È tornata la dispnea; vi è anche tremore e scosse convulsive.
3 »	9.610	170	1025	......	......	......	0.2286	......	....	0.2393	Lieve opacamento albuminoso.	Il cane si trova in condizioni piuttosto gravi; seguita lo stato convulsivo. Rifiuta il cibo.
4 »	9.330	200	1019	......	......	......	......	......	....	......	Non fenolo nelle orine.	Condizioni simili a quelle del giorno precedente.
5 »	......	280	1020	0.6954	0.2805	0.4149	0.0282	40.2	....	......	Opacamento albuminoso.	L'animale si trova in uno stato gravissimo. Si sacrifica per la prova dell'Ehrlich. Alla *Necroscopia* non si trovano ghiandole accessorie. La ferita al collo tendeva a guarire per seconda intenzione.

Per la prova colorimetrica di Ehrlich furono impiegati tre animali, i cani delle ricerche 5 e 6 ed un terzo che non servì ad altro scopo. L'esperienza si faceva quando i fenomeni che seguono alla tiroidectomia erano al loro acme; si sacrificava contemporaneamente, allo stesso scopo, un altro cane in condizioni normali, che doveva servire di controllo. Si iniettarono sempre 7 cc. di soluzione di alizarina S (la modificazione solubile del bleu d'alizarina) per kg. di animale. La morte sosopravvenne sempre nella prima 1[2 ora dall'iniezione. Come via d'introduzione della sostanza colorante si usò in tutti i casi una delle giugulari, alla quale si adattava una cannula di vetro che era in comunicazione con una buretta graduata. Riporterò qui in modo particolareggiato la storia del terzo cane che fu soggetto di esperimento; quella degli altri due si modella, nei particolari, su questa: ne riferisco perciò qui solo i resultati.

Esperienza III. — Cagna da caccia del peso di kg. 8,640.

17 marzo 1896. — Si opera di tiroidectomia.

18 marzo. — L'animale è molto abbattuto. Non presenta altri segni speciali. Peso kg. 8,600.

19 marzo. — La cagna rifiuta il cibo, si regge appena in piedi; verso sera si aggrava, è in preda a tremore, si fa rigida negli arti, ha un po'di dispnea e si soffrega il muso per terra. Peso kg. 8,490.

20 marzo. — Fenomeni simili a quelli di ieri ; le condizioni generali si sono un po'rialzate; ha mangiato alquanto. Peso kg. 8,370.

21 marzo. — La cagna si è di nuovo aggravata; ha tremore, scosse muscolari, fotofobia; rifiuta il cibo, ha dispnea. Visto questo stato di cose si assoggetta alla prova di Ehrlich.

Ore 10,55 ant. — Si fissa l'animale sull'apparecchio, gli si pone la cannula di vetro alla giugulare di destra e si iniettano lentamente in circolo cc. 58,1 di soluzione concentrata, perfettamente limpida, di alizarina S.

Ore 11,14. — Dopo un breve periodo di agitazione iniziano scosse convulsive seguite da apistotono, dispnea e dilatazione enorme della pupilla.

Ore 11,24. — L'animale è agonizzante; si sacrifica per dissanguamento e si procede alla autopsia. Gli organi vengono estratti dall'organismo nell'ordine qui appresso esposto. Piccoli frammenti di essi sono gettati subito nell'acqua bollente e ne vengono estratti quasi immediatamente; questo procedimento, consigliato dall'Ehrlich, rende più distinta

la colorazione ed arresta i processi di riduzione postmortale. I vari organi presentano le seguenti particolarità:

1. *Cuore.* — Leggermente colorato in bleu.

2. *Cervello.* — Sostanza grigia colorata discretamente, sostanza bianca incolora.

3. *Polmone.* — Affatto incoloro.

4. *Fegato.* — Leggermente bleu.

5. *Rene.* Sostanza corticale del tutto incolora; sostanza midollare intensamente bleu.

6. *Muscolatura striata.* — Quasi incolora.

7. *Pancreas.* — Fortemente colorato.

8 *Cartilagine.* — Incolora.

9. *Mucosa gastrica.* — Incolora.

10. *Siero del sangue.* — Intensamente colorato in bleu.

Alcune fette sottili degli organi che si erano mostrati maggiormente incolori, cioè riduttori in grado più forte, previamente passate nell'acqua bollente, tenute per 10-15 secondi in una soluzione di bicromato di potassa, lavate, ed asciugate con carta da filtro, erano tagliate con un coltello umettato di una soluzione di soda caustica; appariva allora un intenso color bleu, segno questo che il tessuto aveva veramente assunta la materia colorante e l'aveva ridotta.

Nel termine di 20 minuti primi erano già avvenuti nel cuore e nel cervello i fenomeni della riduzione postmortale; nel pancreas essa si effettuò molto più tardi.

Cane di riscontro. — Canino pomero bastardo del peso di kg. 3,500.

Ore 11,26 ant. — Gli si iniettano in circolo cc. 24,5 di soluzione satura di alizarina S.

Ore 11,35. — Fenomeni simili a quelli presentati dal cane precedente.

Ore 11,40. — Condizioni estreme; l'animale vien dissanguato.

Ore 11,45. — Morte. Autopsia.

I varî organi vengono trattati nel modo già accennato; essi presentano le seguenti particolarità:

1. *Cuore.* — Lieve colorazione bleu.

2. *Cervello.* — Sostanza grigia non molto intensamente bleu; sostanza bianca incolora.

3. *Polmone.* — Incoloro.

4. *Fegato.* — Mediocremente colorato in bleu.

5. *Rene.* — Sostanza corticale incolora o quasi; sostanza midollare intensamente bleu.

6. *Muscolatura striata.* — Poco colorata.

7. *Pancreas.* — Fortemente colorato.

8. *Cartilagine.* — Incolora.

9. *Mucosa gastrica.* — Quasi incolora.

10. *Siero del sangue.* — Intensamente colorato in bleu.

11. *Tiroide.* — Perfettamente incolora.

L'ossidazione di alcune fette sottili degli organi decolorati mostra che la sostanza colorante era stata assunta nel modo migliore dal tessuto.

Confrontando le sezioni colorate degli organi dei due cani, non si ha nessuna alterazione circa il rapporto tra tessuti colorati e decolorati; la topografia dell'attività riduttrice non presenta alcuna variante. Circa all'intensità della colorazione risulta in modo evidente che le parti colorate lo sono più intensamente nell'animale privo di tiroidi, e le parti dotate di attività riduttrice sono in quest'ultimo anche più decolorate che nell'animale di controllo. La riduzione postmortale non offrì alcuna variazione.

Questa osservazione che avrebbe significato come nell'animale stiroidato si trovi nei tessuti una quantità maggiore di sostanze riduttrici, cioè non ancora passive delle ulteriori elaborazioni per le quali l'organismo se ne libera, non fu confermata dalle altre due esperienze; nei cani delle ricerche n. 5 e 6 non si riscontrò alcuna alterazione dal dato normale o si ebbero dei risultati di opposto significato. Negli animali campioni, la ghiandola tiroide si presentò sempre perfettamente incolora. Ritornerò tra poco su questi dati.

***

Quali fatti risultano dall'insieme delle esperienze riportate, e quali deduzioni se ne possono trarre in rapporto al concetto che informa le presenti ricerche?

Uno dei dati più notevoli e più costanti a verificarsi nei cani stiroidati fu l'aumento della quantità totale dello solfo eliminato, rispetto al valore normale. Infatti nel cane dell'esperienza n. 1 la media quantità emessa prima della tiroidectomia è di gr. 1,0123 nelle 24 ore, dopo l'operazione è di gr. 1,2529; nel cane n. 2 si va da gr. 0,3876 a gr. 0,4819, nel cane n. 3 da gr. 0,3416 a gr. 0,6073 — nel cane n. 5 da gr. 0,3704 a gr. 0,4747 — nel cane n. 6 da gr. 0,6307 a gr. 0,7008. Questo accrescersi della eliminazione del solfo totale indica che nell'organismo dell'animale privato della tiroide avviene una ragguardevole distruzione di materiali proteici. A proposito di quest'ultimo fatto debbo notare come l'eliminazione dello solfo ne rappresenti un indice ancor più esatto che non il decorso dell'escre-

zione dell' azoto; questo asserto ci è comprovato dalle ricerche di Engelmann ([1]) di Schulze ([2]) e di Beck e Benedict ([3]). Questi due ultimi autori hanno anche confermato l' osservazione già fatta da Engelmann (l. c.) e Speck ([4]), che in seguito al lavoro muscolare si verifica un certo aumento nella eliminazione del solfo totale; lo stato convulsivo dei cani stiroidati può darci quindi ragione di una parte dell' accresciuta emissione di sostanze solforate che si osserva in essi. Solo di una parte, ho detto, perchè l'aumento verificatosi nei cani ai quali si estirpava la tiroide è molto maggiore di quello osservato in seguito ad esagerato lavoro muscolare.

Ci troviamo così fin d' ora dinanzi ad un fatto che ci attesta come alla tiroidectomia consegua un profondo disturbo nei processi di nutrizione dei tessuti; questo disturbo, in stretta relazione con la rapida e straordinaria diminuzione del peso degli animali operati, fa pensare che nei tessuti stessi avvengano dei fatti di dissoluzione cellulare. Questi fatti distruttivi a quale causa si devono riportare? Lo stato di quasi completa inanizione dei cani in esperimento, l' intossicazione dei tessuti sono le prime ipotesi che si affacciano alla mente; prima però di prenderle in esame preferisco di passare in rassegna lo stato delle funzioni generali dello scambio, il che costituisce appunto l' oggetto delle presenti ricerche.

L' eliminazione dello solfo neutro mostrò in condizioni normali, rispetto al solfo totale, delle spiccate variazioni da individuo ad individuo; esso presentò un massimo del 41,5 % (cane n° 5) ed un minimo di 30,6 % (cane n° 1); nello stesso soggetto le variazioni giornaliere non furono rilevanti. Questi dati concordano con quelli ottenuti dalla maggior parte degli autori.

([1]) ENGELMANN, *Schwefelsäure und Phosphorsäureaussch. bei körperlicher Arbeit.* (Du Bois Reymond's Archiv., 1871, S. 14.)

([2]) SCHULZE, *Einfluss des Bromkalium auf den Stoffwechsel.* (Zeitschr. f. Biolog., XIX, 1883, S. 301.)

([3]) BEEK und BENEDICT, *Ueber den Einfluss der Muskelarbeit auf die Schwefelausscheidung.* (Pflüger's Archiv., Bd. 54, S. 27, 1893.)

([4]) SPECK, *Untersuchungen über die Beziehungen der geistigen Thätigkeit zum Stoffwechsel.* (Archiv. f. experim. Pathol. und Pharmak., Bd. 15, S. 81, 1882.)

Il cane stiroidato offrì una deviazione non molto sentita, ma costante dal grado normale, nel rapporto tra solfo acido e solfo neutro: con l'aumentare della quantità del solfo totale i due componenti di esso non si accrebbero parallelamente, ma il solfo acido rimase leggermente in difetto. Si ha dunque, in seguito alla tiroidectomia, una diminuzione, in rapporto al solfo neutro, nella quantità dei composti solforati i quali vengono ossidati nell'organismo e sono espulsi come acido solforico, una diminuzione quindi dei processi ossidativi dei tessuti.

A quest'ultima conclusione conduce anche il modo di comportarsi del fenolo introdotto nell'organismo (cani n. 4, 5, 6). Si osserva infatti negli animali stiroidati, rispetto al dato normale, un aumento del fenolo che non essendo bruciato comparisce di nuovo nelle orine; quest'aumento è pure esso lieve e costante come quello del solfo neutro.

L'unione sintetica del fenolo con l'acido solforico si fa, come apparisce evidentemente dalle tabelle riportate, con minore energia nel cane che fu assoggettato all'estirpazione della tiroide; ciò mostrerebbe che parallelamente ai processi di ossidazione anche i fatti sintetici si affievoliscono dopo l'operazione. Anche la quantità giornaliera degli eteri solforici, al di fuori dell'iniezione di fenolo, apparve diminuita.

Per quello che spetta ai processi di riduzione, le risultanze ottenute sono tali da non permettere il trarne qualche conclusione positiva. La ricerca fu compiuta col massimo interesse avendo io osservato che nei cani di controllo la tiroide si mostrava tanto priva del colore caratteristico quanto appena lo erano il polmone e la sostanza corticale del rene, appariva cioè come un organo ad attività sommamente riduttiva.

È dunque per i processi di ossidazione e di sintesi che l'organismo del cane stiroidato rallenta, benchè in lieve grado, il corso delle sue intime attività metaboliche. Volendo assegnare a queste risultanze una interpretazione il più possibilmente esatta, è necessario notare come l'aumento assoluto dell'H_2SO_4 eliminato con le orine non ci permette, tenendo conto della sua diminuzione relativamente al solfo neutro, di affermare che nel cane stiroidato si abbia un difetto nella facoltà

di condurre sino a completa ossidazione i gruppi solforati che si staccano dalla molecola dei composti proteici in scissione, o che rappresentano il prodotto di speciali attività del fegato. Si ha perciò solo una diminuizione relativa dell'ossidazione del solfo, in rapporto con l'aumentata quantità dei composti solforati da elaborare in seguito alla tiroidectomia. L'aumento relativo del solfo neutro ed in parte anche di quello totale possono esserci spiegati dal fatto osservato dal Müller (1), che cioè nell'uomo, dopo un digiuno di parecchi giorni si ha un aumento proporzionale e totale del solfo neutro. La stessa osservazione fu fatta anche dal Sadowen (2) e da Tuczek (3). I cani da me operati di tiroidectomia, sia per l'anoressia ostinata, sia per la invincibile disfagia, cadevano infatti ben presto in uno stato quasi completo di inanizione.

Per quello che riguarda l'ossidazione del fenolo la differenza in meno riscontrata non è notevole, ma sensibile e costante. Se tra le cause che fanno aumentare la quantità del fenolo che viene emesso invariato per le orine ne cerchiamo una che si adatti al caso nostro, siamo costretti ad invocare anche qui lo stato progressivo di inanizione che sopravviene negli animali privati di tiroide. Già le osservazioni sopracitate a riguardo del solfo neutro ci hanno insegnato che nel digiuno i processi di ossidazione diminuiscono; per quello che riguarda più specialmente l'eliminazione del fenolo la dimostrazione fu data dal Pugliese (4).

E la stessa cagione, cioè l'inanizione, alla quale devono essere aggiunti come coefficienti di un certo rilievo il grave stato delle condizioni generali e l'intossicazione dei tessuti, deve essere verosimilmente invocata per renderci conto dell'affievolirsi in seguito alla tiroidectomia della combinazione del

(1) Müller, *Ueber Schwefelwasserstoff im Harn.* (Berl. Klin. Wochenschr., 1887, n. 24, S. 438.)

(2) Sadowen, *Ueber das Hungern des Menschen.* (Maly's Jahresb., 1888, XVIII, S. 281).

(3) Tuczek, *Mittheilung von Stoffwechseluntersuchungen bei abstinirende Geisteskranken.* (Arch. f. Psych., XV.)

(4) Pugliese, *I processi di ossidazione negli animali a digiuno.* (Atti dell R. Accad. dei Fisiocritici, Serie IV, vol. V.)

fenolo coll' acido solforico. Ci soccorre anche a questo riguardo l' osservazione del Pugliese (1) che nell' animale a digiuno i processi di sintesi sono diminuiti.

Nel caso nostro però il fatto potrebbe essere suscettibile anche di un' altra spiegazione; Jaarsveld e Stokvis (2) e Kronecker (3) videro che nei processi nefritici diminuisce la sintesi dell' acido benzoico con la glicocolla; ora tra le lesioni che la tiroidectomia induce negli organi si ha quasi costantemente una nefrite di intensità variabile, la quale potrebbe spiegarci l'abbassamento della unione sintetica del fenolo.

Non si avrebbe quindi in seguito alla tiroidectomia, almeno relativamente ai mezzi di analisi che oggi possediamo, un' alterazione dei processi capitali del metabolismo organico. Contraddice questo alla tesi sostenuta dal Horsley? Certamente no. Che in conseguenza della estirpazione della tiroide si abbia un disordine nelle funzioni nutritive dei tessuti, è dimostrato dal fatto che per essa si effettua una rilevante disorganizzazione di materiali proteici che si appalesa nell' orina col notevole aumento del solfo totale, aumento questo che non può esser sufficientemente spiegato nè dallo stato di inanizione, nè dal lavoro muscolare esagerato in seguito alle scosse convulsive. Quale vincolo di causalità lega la dissoluzione cellulare e l' intossicazione? Lo stato delle conoscenze attuali sulla quistione non permette di azzardare una ipotesi; la risposta ci potrà esser data da indagini più particolareggiate sull' argomento.

Certo però si può comprendere in tesi generale come la distruzione rapida e tumultuaria di elementi cellulari possa portare per conseguenza dei fatti di autointossicazione, versandosi in circolo una quantità esagerata e di natura anomala di prodotti di metamorfosi regressiva. Ed è a questo modo che io mi rappresento la forma dell' autointossicazione negli

(1) Pugliese, *Sui processi sintetici negli animali a digiuno.* (Annali di Chimica e farmacologia, vol. XVII, Serie IV, 1893.)

(2) Jaarsveld und Stokvis, *Ueber den Einfluss der Nierenaffectionen auf die Bildung der Hippursäure.* (Arch. f. experim. Pathol. und Pharmak., X, S. 268, 1879.)

(3) Kronecker, *Ueber die Hippursäurebildung bei Menschen im Krankheiten.* (Arch. f. exph. Path. und Pharmak., Bd. XVI, S. 344, 1883.)

animali stiroidati, basandomi sul risultato delle ricerche da me eseguite. Naturalmente questa più rapida ed anomala distruzione dei tessuti non può essere primitiva; essa proviene dalla mancata funzione della tiroide, ma essa poi probabilmente si esagera in conseguenza dei prodotti che dalla distruzione stessa derivano. Sicchè gli studî sul ricambio dell' animale stiroidato si spiegano sino ad ora non già che cosa faccia la tiroide, ma piuttosto perchè muoia l' animale operato.

I fatti generali che io ho preso in esame formano la cornice di un quadro vastissimo che comprende la innumerevole serie dei fatti d' ordine biochimico che si svolgono nei tessuti animali; sono tanti gli atti chimici complementari che ne formano parte, così numerosi sono i composti che successivamente si originano e si elaborano, e tante sono le nostre incognite sull' argomento, che lo studio ulteriore dei rapporti che legano verosimilmente la tiroide ai fatti nutritivi dei tessuti non può esser fatto al giorno d'oggi che per scandagli operati qua e là dove lo stato presente delle cognizioni sussidia l' opera del ricercatore; è appunto a questo lungo e paziente lavoro di investigazione che io ho inteso di concorrere con questo contributo sperimentale.

Firenze, 6 Luglio 1896.

Istituto Anatomico di Firenze, diretto dal prof. G. Chiarugi.

INTORNO A DUE CASI DI PROCESSO SOPRACONDILOIDEO INTERNO
DEL FEMORE UMANO

PEL IL

DOTT. UMBERTO ROSSI
1° Aiuto e Docente di Anatomia normale

(CON UNA FIGURA)

Poche osservazioni di processo sopracondiloideo interno del femore umano sono state fino ad oggi registrate e non esiste il più completo accordo fra gli anatomici su questa varietà ossea. Per alcuni rappresenta una ossificazione del tendine del grande adduttore, per altri uno sviluppo esagerato dell'impronta rugosa cui si attacca il gemello interno; chi lo ha reso omologo al processo sopraepitrocleare dell' omero, chi in fine ha creduto di ravvisare in esso il terzo trocantere. Astrazion fatta da queste vedute così differenti che tutti i trattatisti vanno da molti anni, con poche varianti, ripetendo, dirò come coloro i quali più diffusamente e in maniera più completa hanno scritto intorno al processo soprocondiloideo interno del femore umano sono Gruber, cui spetta il merito di averlo per primo illustrato, e Calori.

Gruber distingue un processo sopracondiloideo interno e uno esterno; divide l' ultimo in vero (rarissimo) e in spurio (frequente) che sarebbe una esostosi. Relativamente all' interno non fa questa distinzione e dice come possa presentarsi sotto due forme: di tuberosità o di apofisi che è assai rara in confronto della prima. Secondo Gruber la tuberosità o l'apofisi si presenta solo al di là dei 25 anni e sopra un numero ragguardevole di cadaveri esaminati, due sole volte ha potuto vedere un vero e proprio

processo. In uno di questi casi esso era contenuto entro una borsa mucosa che lo separava dal tendine del grande adduttore. Per Gruber tuberosità o apofisi starebbero in speciale rapporto con l'inserzione del capo superiore del muscolo gastrocnemio interno. In seguito a ricerche comparative l'A. ha potuto constatare l'esistenza di un processo sopracondiloideo interno femorale solo nei seguenti mammiferi: *Cervus alces*, *Cervus virginianus. Antilope gutturata*, *Antilope pigmaea*, *Cebus elaphus*, *Cervus tarandus*. In questi due ultimi però che sono assai meno veloci nel corso si riscontra soltanto un vestigio di processo, per cui parrebbe che il suo sviluppo e la sua esistenza dovesse stare in ragione diretta con il grado di velocità nel correre. Calori obietta che sarebbe giusto fare anche per il processo sopracondiloideo interno la distinzione in vero e falso e contrariamente a quanto Gruber ha asserito, rileva la presenza di detto processo nel *Dasypus sexcintus* Gmel., nel *Cebus apella*, nel *Procyon lotor* Desmar., nel *Camelus dromedarius* Linn., nella *Phoca foetida* Müller, nel *Cervus dama* Desmar., e un vestigio nel *Dasypus villosus* e nella *Capra* adulta. Relativamente ai suoi tre casi esclude Calori trattarsi di esostosi e ritiene invece che essi sieno la espressione di accidentali ossificazioni della porzione inferiore del ligamento intermuscolare interno prodotta da cause che non si possono escogitare. Non voglio in fine tacere di Hyrtl il quale dopo avere nel suo trattato di Anatomia Topografica riassunte le osservazioni di Gruber dice come nel Museo Anatomico di Vienna esistevano due femori con processi sopracondiloidei lunghissimi, citati nel catalogo come esostosi e che una di dette ossa era affetta nella estremità inferiore da spina ventosa.

Data la scarsezza delle osservazioni e le discrepanze cui più sopra ho brevemente accennato, mi è parsa non priva di interesse la descrizione dei seguenti due esempi di processo sopracondiloideo interno, gli unici che mi si sieno presentati nel volgere di parecchi anni malgrado la notevole abbondanza del materiale fornitomi dal nostro Istituto Anatomico.

Esempio 1° (n. 1).

Questo femore sanissimo apparteneva a una donna certa Ersilia M. morta nel Manicomio di San Salvi all'età di 61 anni. Ha una lunghezza di cm. 47.5; la linea aspra è molto sviluppata e l'estremità inferiore assai slargata in senso trasverso misura mm. 66. Accenno di terzo trocantere. A circa 2.5 cm. sopra il tubercolo del grande adduttore, sul margine interno dell'osso che in questo caso si allontana dalla branca interna di biforcazione della linea aspra, prende origine una robusta apofisi che ha una direzione obliqua dall'alto al basso e che presenta due superfici, una posteriore e una anteriore. I margini

N. 1. N. 2.

sono arrotondati; l'estremo libero è lievemente ripiegato ad uncino verso la porzione diafisaria del femore ed è ricoperto da cartilagine. Le due superfici poco al disopra della larga base di impianto dànno presso a poco nel loro massimo diametro mm. 8. L'apofisi ha un'altezza di mm. 7.5. Essa si trovava contenuta in una ampia borsa mucosa indipendente dall'articolazione ed era coperta dalla parte inferiore del vasto interno. Nulla di notevole nel femore destro.

Esempio 2° (n. 2). [1]

Questa osservazione fu da me praticata in un femore macerato che si conserva ancora nel Museo Anatomico. Per conseguenza nulla posso dire riguardo al sesso, all' età, alla condizione dell' individuo cui apparteneva e ciò che più monta, sui rapporti con le parti molli. L'osso si presenta sano e ha una lunghezza di cm. 46. L'estremità inferiore slargata un po' più del normale misura in senso trasverso mm. 55. Circa 3 cm. sopra il tubercolo dell' adduttore e sul prolungamento della branca interna di biforcazione della linea aspra, si nota una eminenza ossea lievemente uncinata, appuntita, di forma triangolare avente una base di mm. 14 e un'altezza di mm. 12, diretta in alto e in dentro. Presenta a considerare tre facce; la posteriore è liscia e levigata in particolar modo nei suoi due terzi superiori; l'anteriore è alquanto scabra ed è percorsa da una particolare solcatura per tutta la sua lunghezza; l'inferiore più ristretta assai delle altre mostra pure essa un accenno di solco. Queste tre facce misurate presso a poco sulla metà in altezza dànno: la posteriore mm. 5, l'anteriore mm. 4, l'inferiore mm. 3. Nel punto di impianto di detto processo sul femore, l'estremità inferiore di quest'osso offre all'osservazione come un sollevamento prolungato per più di 4 cm., visibile non tanto sulla faccia posteriore quanto guardando il femore stesso di faccia e un po' obliquamente.

Che il processo sopracondiloideo interno del femore debba essere sempre considerato come una esostosi io assolutamente non lo credo poichè si presenta e molto di frequente in ossa sanissime; improbabile altresì mi sembra sia per la posizione, sia per la direzione ed estensione che esso, quando naturalmente non si trovi contenuto in particolari borse mucose, debba servire a dare attacco ai muscoli gastrocnemio interno o grande adduttore.

---

[1] Questo caso fu già da me pubblicato nel 1890. Ho creduto ben fatto per varie ragioni riunire in un' unica nota ambedue le osservazioni.

Malgrado le ipotesi emesse da anatomici valentissimi, io riconosco che per la scarsità dei casi fin qui raccolti e per lo studio incompleto e imperfetto di essi, il significato di questa varietà ossea resta oltremodo oscuro e difficile a escogitare, e ritengo che qualche lume in proposito dobbiamo solo sperare da ulteriori e più complete osservazioni e da più esatte ed estese ricerche anatomo-comparative poichè sembra dimostrato che il processo sopracondiloideo interno del femore, secondo Gruber e Calori, abbia un riscontro in alcuni mammiferi inferiori all' uomo.

AUTORI CONSULTATI.

1. G. Romiti, Trattato di Anatomia dell' uomo.
2. L. Testut, Trattato di Anatomia umana. — Traduzione italiana di S. Varaglia. — Torino, Unione tipografico-editrice, 1894.
3. W. Krause, Handbuch der menschlichen Anatomie. — Hannover, 1880.
4. Henle, Handbuch der Systematischen Anatomie des Menschen. — Braunschweig, 1871.
5. Hyrtl, Manuale di Anatomia topografica. — Traduzione di F. Roncati. — Milano, 1858.
6. W. Gruber, Monographie des canalis, etc. (citato da tutti i trattatisti suaccennati e da Calori).
7. L. Calori, Intorno al processo sopracondiloideo interno del femore nei mammiferi e nell' uomo. — Memorie dell'Accademia delle Scienze dell' Istituto di Bologna, serie IV, tomo 4°, 1882, pag. 585–589, con due tavole.

Laboratorio di Materia Medica e Farmacologia sperimentale di Firenze.
(Prof. G. Bufalini).

ALCUNE RICERCHE SULLA IMENODICTIONINA

DEL

DOTT. G. CORONEDI

Aiuto e Libero docente.

La corteccia di *Hymenodyctyon excelsum* (Wallach) o di *Cinchona excelsa* (Roxb) delle Rubiacee, serie delle Cinchone, dotata di un sapore amarissimo, più forte di quello della China, gode nelle Indie grande riputazione come succedaneo di quest' ultima, tanto a scopo febbrifugo che tonico. Sembra che il posto occupato dalla pianta nella classificazione botanica abbia altresì contribuito a dare fondamento alle più belle speranze sulle virtù di essa.

Nel 1870 Broughton aveva fatto dei tentativi d'estrazione sulla droga, ma con maggiore fortuna nel 1883 se n'occupò Naylor, scoprendovi, come componente attivo, un alcaloide amaro, da lui detto imenodictionina, e che si presenterebbe come una massa gelatinosa gialla, avidissima di acqua, probabilmente volatile: svaporando con cautela la soluzione eterea si avrebbe in forma cristallina. Le fu assegnata la formula empirica $C^{23} H^{40} N^{2}$, e se ne farebbe una diamina terziaria. Questo alcaloide potrebbe ancora essere ravvicinato sotto alcuni punti di vista alla chinoidina, alla paricina, ed alla berberina. Benchè non manchino criteri spiccati di differenziamento, queste analogie possono forse essere tenute in conto dal lato farmacologico, come meglio vedremo più avanti. Con tutto ciò si tratta di un alcaloide ancora troppo poco conosciuto per poterne fare uno studio completo.

Nel 1887 Vegni fece, nel Laboratorio di Materia medica di Siena, diretto dal prof. Bufalini, una serie di ricerche sull'azione dell' imenodictionina esprimendo, in base alle virtù terapeutiche notate nella droga, il sospetto di una possibile analogia farmacologica cogli alcaloidi della corteccia di china-china. Egli si serviva di un campione preparato da Schuchardt col metodo di Naylor. Egli concluse che « l'imenodictionina esercita un'azione paralizzante sul cervello e più specialmente sui centri volontari, ed ugualmente agisce sul midollo spinale: ma in principio invece può in qualche modo produrre effetti di eccitazione; poichè nei primi periodi di avvelenamento, talora si è avuto piuttosto un aumento che una diminuzione dei moti reflessi e solo negli ultimi periodi questi diminuivano e scomparivano. Non ha azione alcuna sulla eccitabilità nervosa e periferica nè sulla fibra muscolare volontaria. Diminuisce la frequenza delle contrazioni cardiache.... porta infine l'arresto completo del cuore in diastole, ma non esercita direttamente la sua azione nè sulla fibra muscolare cardiaca, nè sui gangli intracardiaci, perchè è effetto di un'azione deprimente sui centri nervosi in genere. »

Dopo questi studi preliminari non mi consta che l'Autore abbia fino ad oggi pubblicato altro in proposito.

L'anno scorso il prof. Bufalini mi propose di continuare le ricerche di Vegni, adoperando lo stesso campione d'alcaloide. Questo si presenta sotto l'aspetto di una polvere amorfa, leggiera, quasi resinoide, giallo-marrone, inodora, insolubile nell'acqua, solubile in acqua acidulata (acido acetico, tartarico, cloridrico), in alcool etilico, insolubile in etere solforico. Questi semplici saggi ho creduto opportuno di fare trattandosi di un corpo così poco conosciuto: essi mi hanno convinto che il prodotto studiato si discosta per la insolubilità in etere da quello di Naylor. Perciò non parlerò di imenodictionina ma bensì di imenodictionina di Schuchardt.

Di questa furono preparate diverse soluzioni acide e soprattutto una soluzione acetica (1-2 %) e una cloridrica (0,50 %). Dette soluzioni si mantengono anche lungamente del tutto limpide, ma intorbidano non appena vengano neutralizzate.

Riassumo i risultati ottenuti dallo studio dell'azione generale (queste esperienze furono fatte dal sig. V. Martini): nelle rane, con dosi non superiori a 0,005, si osserva una paresi e paralisi del treno posteriore, diminuzione dei riflessi e dell'eccitabilità nervosa periferica: questo stato però dileguasi completamente.

Con dosi di 0,01-0,02 si ha precoce paralisi grave come sopra nel treno posteriore, paresi in quello anteriore, abolizione dei riflessi e della eccitabilità neuro-muscolare e dei movimenti ioidei. Eccezionalmente è stato osservato un fugacissimo stadio di eccitazione precedente i fenomeni depressivi.

Nel rospo (bufo vulgaris) maggiore resistenza all' azione del veleno, ma identica la natura dei fenomeni osservati. Anche la salamandra (triton cristatus) si comporta in modo analogo.

Nel coniglio (gr. 0,03-0,04 per kg.) determinano sollecitamente stato di paralisi generale grave, accompagnato da forti alterazioni del respiro (dispnea). Questi fenomeni hanno quasi un tipo accessionale, e sono intercalati da qualche breve periodo di tregua. La paralisi peraltro va sempre più accettuandosi fino alla morte: solo nel periodo agonico, e di rado, lo stato paralitico può esser interrotto da fugaci e lievi accessi convulsivi a tipo tetanico.

Ma l' azione più caratteristica dell' imenodictionina, e più interessante dal lato fisiologico è quella che si dispiega sul cuore. Già Vegni esperimentando sulle rane e specialmente sui rospi, aveva osservato « che l' imenodictionina diminuisce la frequenza delle contrazioni cardiache per l' aumento del tempo necessario per il compiersi della rivoluzione del cuore e soprattutto per l' aumento della pausa diastolica; porta infine l' arresto completo del cuore in diastole, ma non esercita direttamente la sua azione nè sulla fibra muscolare nè sui gangli intracardiaci, perchè è effetto di un' azione deprimente sui centri nervosi in genere ».

A quest' ultima parte della conclusione era egli giunto avendo ottenuto risultati negativi colle prove di circolazione artificiale coll' apparecchio di Roy, a cuore legato nel solco, ed impiegando il sale tartarico dell' alcaloide.

Nel luglio 1895 io faceva una prima comunicazione in proposito all'Accademia Medico-Fisica in Firenze. Benchè si trattasse di semplici esperienze preliminari, nondimeno i resultati erano interessanti, e concordano in tutto colle indagini posteriori.

Ho sperimentato sempre sul cuore di rospo (bufo vulgaris) in primavera o nei primi mesi d'estate. Nelle ricerche sul cuore in sito ho usato la pinza di Marey, valendomi, per evitare qualunque spostamento dell' organo, di una piastra metallica modello C. Verdin.

Per le ricerche sul cuore fuori di sito ho impiegato i cardiografi di Williams e di Bufalini. Quanto alla descrizione ed ai vantaggi offerti da quest' ultimo, rimando agli atti dell' Accademia Medico-Fisica di Firenze, anno 1896.

Colla pinza di Marey si mette sopratutto in evidenza la notevole rarefazione delle contrazioni cardiache e il loro benchè lieve aumento d' ampiezza. Il ventricolo muore più presto delle orecchiette e del seno: quando il primo è già fermo in sistole, le rimanenti porzioni possono contrarsi ancora abbastanza vivacemente. Ma i resultati più brillanti si ottengono sperimentando sul cuore fuori di sito.

Riporto un' esperienza che le vale tutte.

7 giugno 1895. T. 21°. Cuore di bufo vulgaris; la cannula è fissata nell' aorta. Cloridrato di imenodictionina gr. 0,02 su cc. 90 di siero nutritivo (2/3 di soluzione fisiologica di cloruro di sodio, 1/3 sangue di manzo defibrinato).

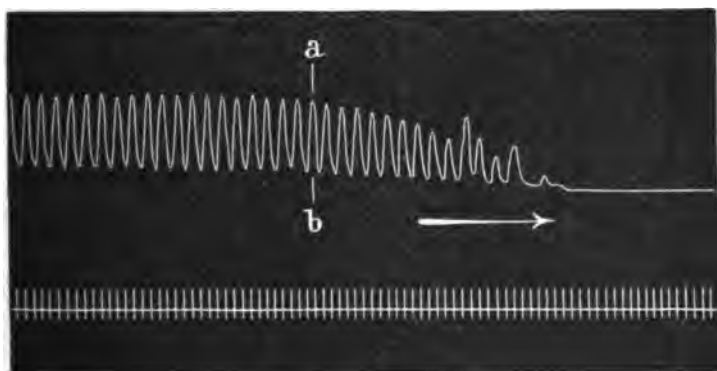



Figura 1.

Dal principio del tracciato fino alla linea *ab* si ha il tipo normale; da questa in poi si ha il tracciato cardiaco sotto l'azione dell'imenodictionina. Risulta chiaro a primo aspetto che al passaggio del siero avvelenato tiene dietro quasi istantaneamente un arresto diastolico interessante soprattutto il ventricolo.

Se con sollecitudine attraverso un cuore in queste condizioni si fa circolare siero normale, quasi subito non solo si ripristina la contrazione nel ventricolo ma essa diviene del doppio più energica, e in compenso della metà meno frequente, di quello che era al principio dell'esperienza.

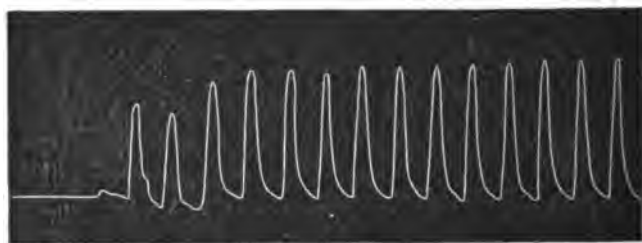



Figura 2.

Se nuovamente si fa passare attraverso il cuore il siero avvelenato, nuovamente, e in modo ancora più brusco, si osserva l'arresto diastolico, il quale può essere di nuovo rimosso colla sostituzione pronta di siero normale a quello avvelenato. Ripetiamo ancora la prova con quest' ultimo, e allora abbiamo un arresto che è impossibile, o quasi, di rimuovere anche col passaggio, pure prolungato, di siero normale.

Sembra quasi che il cuore siasi stancato del giuoco. A questo punto osserviamo dei fatti singolarissimi: nei primi m[illegible] menti in cui il siero normale circola, il ventricolo tenta u[illegible] sforzo supremo compiendo contrazioni talvolta di estrema en[illegible] gia, del tutto irregolari: ma ben presto la pressione si abbassa,

penna tocca l'ascissa senza però star ferma, ma scrivendo delle oscillazioni quasi impercettibili, come nella figura seguente:

Figura 3.

Se in questo momento si toglie il cuore dal bagno, si osserva direttamente un fenomeno abbastanza curioso: le orecchiette e il seno venoso stanno immobili e sono enormemente dilatati e distesi; il ventricolo invece è in preda ad un movimento vivacissimo, continuo, vermicolare, o, meglio forse, a ondata che va dalla punta alla base e viceversa. Il siero contenuto nel ventricolo cammina da un canto all' altro del medesimo, mentre il circolo di ritorno è completamente sospeso. In sostanza sia per la forma, sia per il momento in cui si verificano, questi movimenti hanno, almeno a parer mio, il significato di tentativi sistolici che vanno a vuoto. Questa fase dura un tempo abbastanza lungo, fino a che si trovano le orecchiette nello stato descritto capaci di contrarsi ancora dietro stimolazioni, e il ventricolo che non risponde più a nulla, rimpiccolito, in stato di arresto sistolico definitivo, o piuttosto di irrigidimento muscolare.

Sicchè riepilogando tutti i risultati ottenuti, sempre così costanti, si può dire che la imenodictionina circolando attraverso il cuore di rospo (in proporzioni da 0,02 — a 0,06 $^0/_{00}$ di siero nutritivo) determina i seguenti effetti. Da principio una breve fase di irregolarità dei movimenti cardiaci, che si manifesta in modo brusco e costante, e ad essa segue subito un vero e proprio arresto diastolico, il quale per altro può esser rimosso col passaggio del siero normale: allora si nota una fase caratterizzata da aumento notevole d' altezza e forte diminu-

zione di frequenza dell'escursione cardiaca. Si ha adunque un prolungamento della pausa, del quale l'arresto in diastole rappresenta l'esagerazione. In favore di questo modo di vedere sta il fatto, che detto arresto si manifesta senza previa fase di aumento dello sforzo muscolare, ciò che esclude la possibilità di interpretarlo come fenomeno di stanchezza. Oltre di questo si tenga conto ancora del fatto, che il passaggio del siero normale può rapidamente ricondurre l'organo non solo alla funzione normale, ma bensì ad una funzione esagerata. Infine poi non va dimenticata la possibilità di ripetere sullo stesso cuore il fenomeno per parecchie volte di seguito. Dopo la fase di aumento e rarefazione dell'escursione si ha un ritorno completo del tracciato al tipo normale. Durante l'arresto diastolico il cuore, e più specialmente in corrispondenza delle orecchiette e del seno, è fortemente disteso e raggiunge un volume corrispondente quasi al doppio della norma. Si può dire costantemente, allora si osserva nel ventricolo la comparsa di movimenti, quasi di onde, con ritmo, direzione e forma del tutto regolare; il fenomeno può durare anche parecchie ore. Abbiamo già detto come si poteva interpretare questo fatto, e a conferma del nostro modo di pensare si può aggiungere la possibilità di vedere sparire il fenomeno, quando si è manifestato in modo precoce, allorchè si fa circolare siero normale. L'arresto finale è sistolico per il ventricolo, le pareti del quale vengono ad addossarsi: questo arresto, entro certi limiti, può esser vinto, facendo artificialmente aumentare la pressione del liquido circolante. Frattanto le orecchiette rimangono flaccide e danno ancora qualche lieve contrazione.

L'imenodictionina è adunque un agente farmacologico energico e caratteristico rispetto al cuore, per il quale tuttavia non sembra essere un veleno potente attesa la facilità colla quale i suoi effetti possono essere rimossi.

Resta ora a domandarsi: è un agente muscolare, o nervoso, ovvero l'uno e l'altro insieme? L'opinione di Vegni del tutto negativa non può essere assolutamente accettata: è chiaro che l'A., benchè abbia adoperato lo stesso prodotto impiegato da me, è caduto in errore a causa forse della esiguità delle dosi im-

piegate, o dell' essersi servito di soluzioni non ben fatte: abbiamo già veduto a questo proposito come bisogni procedere con grande cautela a fine di impedire la precipitazione dell'alcaloide. Considerando il carattere dell' azione generale, si propenderebbe a credere che l' imenodictionina fosse un veleno nervoso anche per il cuore, e questo già io diceva nella mia prima comunicazione. Ma i fatti valgono più delle considerazioni.

L'atropina non vale a impedire l'azione della imenodictionina, solo appena a ritardarla, e tanto meno a rimuoverla quando si è già manifestata. L'azione dell'atropina è stata sperimentata sia applicandola col bagno esterno, sia mescolandola al liquido circolante. Tuttociò ci induce a ritenere che l' azione dell'imenodictionina non sia collegata, almeno esclusivamente, alla innervazione intracardiaca, ma debba spiegarsi se non in tutto, certo in grande prevalenza sulla fibra muscolare.

Nei mammiferi l' azione cardiaca dell' imenodictionina si riassume tutta in un abbassamento abbastanza rapido e progressivo della pressione sanguigna, riferibile in parte al cuore, in parte a depressione, preceduta forse da un fugace periodo di eccitazione, del bulbo.

Riporto 3 esperienze:

Esperienza I. — (4 luglio 1895).

Coniglio di gr. 1300. Manometro alla carotide sinistra.

Tempo	Pressione media in millimetri di Hg.	Osservazioni
11 antimer.	131.6	Iniezione peritoneale di gr. 0,04 di imenodictionina (soluzione acetica acida).
11.1' »	138.2	
11.2' »	86.6	
11.3' »	26.8	
11.4' »	8.1	
11.5' »	0	Il coniglio muore con fenomeni di paralisi.

ESPERIENZA II. — (3 luglio 1895).

Cane di kg. 7.700. Manometro all' arteria femorale destra.

Tempo	Pressione media in millimetri di Hg.	Osservazioni
5 pomerid.	184.2	Iniezione di gr. 0,05 di imenodictionina in soluzione acetica (acida) nella vena femorale destra.
5.1′ »	176	
5.2′ »	76.8	
5.3′ »	52	Tolto l'animale dall'apparecchio di contenzione è in preda a forte dispnea, tremore, accenni di allucinazione visiva e uditiva, coscienza conservata. L'animale si rimette.

ESPERIENZA III. — (27 marzo 1896).

Cane di kg. 7. Manometro alla carotide sinistra.

Tempo	Pressione media in millimetri di Hg.	Osservazioni
3 pomerid.	187.2	Iniezione di gr. 0,08 di imenodictionina (soluzione acetica acida) nel cavo peritoneale.
3.1′ »	185	
3.2′ »	170.4	
3.3′ »	152.8	
3.4′ »	169.8	Terminata l' esperienza l' animale è in discrete condizioni; più tardi tuttavia viene a morte.

Qualche analogia fra l' azione dell' imenodictionina e i farmaci del gruppo della digitalina risalta a prima vista. Il rosp(o) è, come si sa, poco sensibile in paragone della rana di fronte a

quest'ultimo veleno. Io ho avuto occasione, a scopo comparativo, di riprendere l'argomento, ed ho potuto convincermi che il cuore del rospo, tolto dall'organismo, è sensibilissimo alla digitalina e meglio ancora all'infuso di digitale, ciò che non accade di osservare esperimentando sul cuore in sito. Attese le buone condizioni, in cui si può trovare il cuore anche tolto dall'animale, io credo, come altra volta ho asserito, che questi fatti parlino in favore dell'opinione, secondo cui la nota refrattarietà del rospo verso la digitale dovrebbe riferirsi alla esistenza in esso di un veleno ad azione analoga. Sarebbe forse un esempio d'immunità naturale. Tolto di sito il cuore diverrebbe suscettibile di essere colpito presso a poco come quello della rana, forse perchè messo in condizioni di opporre minore resistenza da un lato, e dall'altro forse perchè non più bagnato dal siero immunizzante. Comunque sia è certo che le analogie accennate sopra esistono, nè è mestieri di enumerarle.

Anche colla chinina non mancano punti di contatto, non però forse tanto stretti quanto si poteva supporre a priori. Il rospo è bene suscettibile all'azione di questa sostanza, la quale eccita dapprima e successivamente paralizza i gangli motori del cuore, e forse anche lo stesso miocardio. L'arresto definitivo diastolico è stato anche da me osservato, ma non si manifesta con quell'apparenza speciale e direi caratteristica che abbiamo veduto a proposito della imenodictionina: mancano poi i movimenti vermicolari a onda, e l'arresto non suole essere rimosso o solo assai difficilmente. Un punto di contatto è quello dell'aumento d'energia e della rarefazione delle escursioni cardiache. Ma la differenza capitale sta in ciò, che mentre per la imenodictionina il meccanismo d'azione sembra prevalentemente muscolare, per la chinina sembra prevalentemente nervoso: io credo tuttavia che a quest'ultimo riguardo siasi forse ecceduto e che l'azione sul miocardio non sia per la chinina un fatto dubbio.

Del resto per molti altri rispetti, che qui accenno solo di volo, la chinina si discosta dalla imenodictionina; così p. es., questa disturba l'azione dell'emulsina, che non è sensibilmente influenzata dalla chinina, attivissima invece sui microrganismi

fermenti. Così pure mentre la chinina rallenta o impedisce il trasporto di ossigeno per opera dell' emoglobina, in presenza di olio di trementina ozonizzata e di tintura di guaiaco, l' imenodictionina non possiede questa proprietà.

La mancanza di cognizioni chimiche sulla natura dell'imenodictionina non mi permette per ora di continuare lo studio farmacologico, sopratutto comparativamente alle sostanze colle quali sembra avere qualche somiglianza.

Firenze, luglio 1896.

Le principali notizie bibliografiche sono le seguenti:

Dujardin-Beaumetz et E. Égasse, Les plantes médicinales, etc.— Paris, 1889.

Naylor, Pharm. Journ. — Aprile-Ottobre 1883 (citato da Dujardin-Beaumetz et E. Égasse).

I. Guareschi, Gli alcaloidi.

G. Vegni, Ricerche preliminari sull' azione dell' imenodictionina. (Boll. della Sezione tra i cultori delle Scienze mediche nella R. Accademia dei Fisiocritici in Siena, anno V, 1887).

G. Coronedi, Sull' azione cardiaca dell' imenodictionina, ecc. (Atti dell'Accademia Medico-Fisica di Firenze, 1895).

Laboratorio di Materia Medica e Farmacologia sperimentale di Firenze.
(Prof. G. Bufalini).

ANALOGIA CHIMICA E FISIOLOGICA

FRA IL TARTRATO ANTIMONIOSO POTASSICO (EMETICO DI Sb) E QUELLO VANADOSO POTASSICO (EMETICO DI V).

RICERCHE

DEL

DOTT. G. CORONEDI
Aiuto e Libero docente.

Note preliminari.

Nel Laboratorio di Chimica farmaceutica, diretto dal prof. A. Piccini, sono stati eseguiti in quest'anno alcuni tentativi per la preparazione del tartrato di potassio e di vanadile (VO). [1] In base alla analogia esistente fra V e Sb, appartenenti al 5° gruppo di Mendelejeff, fu pensato che il primo nella forma di combinazione corrispondente al sesquiossido, come il secondo, potesse facilmente combinarsi coi tartrati acidi alcalini originandosi analoghi composti.

Fu infatti constatato che il sesquiossido idrato di vanadio, di per sè insolubile nella potassa caustica, diventa solubile in presenza di cremor di tartaro. Non si potè ottenere fin qui nessun composto solido cristallizzato; perciò gli esperimenti furono eseguiti con una soluzione che conteneva il vanadile, il potassio ed il residuo dell'acido tartarico nella proporzione che vorrebbe la formula del composto: $C^4 H^4$ (K. VO) O^6, corrispondente all'emetico di antimonio: $C^4 H^4$ (K. SbO) O^6.

---

[1] N. Brizzi, *Dissertazione dottorale in Chimica e Farmacia*, 1896.

Di detta soluzione, che è di colore verde azzurro e si altera molto all' aria e alla luce, venivano somministrate, mediante la sonda gastrica, al cane, in piena digestione, dosi corrispondenti a gr. 0,05-0,10-0,20 di sesquiossido di vanadio. D' ordinario non sono mai stati osservati fenomeni di speciale carattere concomitanti il vomito. Il quale costantemente si è manifestato anche colle dosi minori, ma solo parecchie ore dopo la somministrazione dell' emetico, in misura però proporzionale alla quantità di esso che era stata introdotta. Le materie emesse dallo stomaco, sempre di consistenza poltacea, erano rappresentate da residui alimentari solidi, mescolati a poca saliva e muco. Specie in seguito alle dosi più elevate, si osservava, come fatto tardivo, qualche scarica alvina di materie bruno-scure, semifluide.

Se si confrontano questi fenomeni con quelli risultanti dall' azione dell' emetico di antimonio, emerge chiara una notevole differenza, nel senso che quest' ultimo provoca una emesi più sollecita ed abbondante, accompagnata da fenomeni secondarî di una certa entità, quali sopratutto la nausea intensa, la diaforesi, il raffreddamento delle estremità, l' aumento di frequenza del polso e del respiro. In un cane di media grandezza gr. 0,05 di tartaro emetico, dati per bocca, bastavano a produrre vomito dopo 13 minuti (L. Hermann).

Già sotto altri punti di vista era stata antecedentemente fatta rilevare l' analogia farmacologica esistente fra As, Sb e V. (Binz, *Lezioni di Farmacologia sperimentale.* Trad. A. Solaro, Napoli, 1888). Il confronto fra l' azione emetica dei due tartrati doppi non può a meno di convalidare l' analogia esistente anche dal lato fisiologico fra i due gruppi Sb = O e V = O. Le differenze esistenti, come abbiamo veduto, non tanto nella natura, quanto nel grado di intensità del fenomeno, si prestano a qualche considerazione speciale. Potrebbe a primo aspetto apparire la differenza in rapporto colla diversità dei pesi atomici rispettivi. Ma forse è più razionale rivolgere l' attenzione almen anche ad altri punti. Curci si è occupato di mettere in ev denza i rapporti esistenti fra azione fisiologica e legge di pe riodicità, e ha concluso che « l' azione biologica degli elemen

seguiterebbe la legge periodica della chimica » ([1]). Gli elementi che entrano a formare ciascun gruppo hanno delle analogie generali fra loro tanto dal lato chimico che farmacologico: ma sotto quest' ultimo punto di vista, essendo ancora molto incomplete le nostre cognizioni, la dimostrazione naturale non è stata data che entro limiti ristretti. Benchè esistano queste analogie generali dal lato chimico, esistono vari gradi di somiglianza fra ciascuno degli elementi del gruppo: così nel 5° gruppo somigliano a Sb assai più As e Bi che non N e P, e soprattutto V — Nb e Ta: questi due ultimi termini poi s'allontanano dai tre omologhi As, Sb e Bi assai più di quello che fa V. Se queste semplici considerazioni che io ho fatto, si trasportano nel campo biologico, si può forse trovare anche in esse una ragione delle differenze di proprietà osservate fra l'emetico antimonioso e quello vanadoso. A volere per altro dare più solido fondamento a questi rapporti fra legge di periodicità e azione fisiologica, rispetto al 5° gruppo, bisognerebbe studiare bene gli altri due termini contigui a V, ossia Nb e Ta, ciò che mi propongo di fare in un prossimo lavoro.

Ringrazio il prof. Piccini che mi ha offerto l'occasione di eseguire ricerche di questo genere.

Firenze, luglio 1896.

([1]) A. Curci, *La Farmacologia secondo la legge periodica della Chimica.* Messina, 1887.

Laboratorio di Fisiologia di Firenze, diretto dal prof. G. Fano.

RESISTENZA DEGLI ERITROCITI
ALCALINITÀ DEL PLASMA E PRESSIONE OSMOTICA DEL SIERO DEL SANGUE
NELLE DIFFERENTI CLASSI DEI VERTEBRATI

RICERCHE COMPARATIVE

DEI DOTTORI

F. BOTTAZZI E **V. DUCCESCHI**
Aiuto. Assistente.

I.

Lo scopo delle nostre ricerche è stato quello di rintracciare i rapporti esistenti fra tre dei fattori della composizione normale del sangue:

1° la resistenza che presentano le emazie a cedere la loro emoglobina;

2° la pressione osmotica del siero;

3° l'alcalinità del plasma sanguigno.

Piuttosto che eseguire le nostre esperienze sopra animali di una stessa specie, ponendoli in condizioni sperimentali siffatte che una o più delle proprietà del sangue che erano oggetto del nostro esame subissero una variazione dal dato normale, come del resto fece la maggior parte degli sperimentatori che ci hanno preceduto sull'argomento, noi preferimmo di fare uno studio comparativo sul sangue delle varie classi dei vertebrati. Noi possediamo i mezzi di provocare artificialmente nell'organismo di un animale delle deviazioni dalla norma nel grado di resistenza delle emazie, nel valore osmotico del siero e nell'alcalinità del plasma; ma essi sono di tale natura che indu-

cono nel sangue una serie di altre alterazioni sommamente variabili di intensità, difficili ad esser valutate, ed in parte ancora ignote nella loro natura. Tali mezzi sono, per esempio, il salasso, l'asfissia, il digiuno, una serie di intossicazioni, ecc. D'altra parte non è men vero che seguendo il procedimento da noi prescelto, occorre tener conto delle differenti condizioni in cui si trovano gli animali in esperimento; ma esse sono fisse e per la maggior parte ben note: tali, la costituzione morfologica delle emazie (l'essere per esempio nucleate o no), la natura dell'animale (omotermo o poichilotermo), ecc.

Una delle quistioni su cui si fissò da prima e principalmente la nostra attenzione fu quella di vedere in che rapporto stessero tra loro la resistenza delle emazie e la pressione osmotica del siero. Teoricamente (lasciando per un momento da parte l'alcalinità del plasma) si è indotti a pensare che quei due fattori debbano variare parallelamente. Sarebbe da supporre che ad una pressione osmotica molto bassa del siero dovesse corrispondere una resistenza molto alta delle emazie, altrimenti si avrebbe di conseguenza una diffusione dell'emoglobina. Se questo rapporto di reciprocità si constatasse, ne deriverebbe una legge molto importante che potrebbe essere formulata nel modo seguente: la pressione osmotica del siero è l'espressione della resistenza che oppongono le emazie a cedere la loro emoglobina. E non meno importante sarebbe il corollario biologico che logicamente se ne potrebbe trarre, cioè che la diffusione della emoglobina è un fatto legato alle condizioni fisiche dell'ambiente liquido che circonda l'emazia.

Se i due fatti non decorrono paralleli, se la pressione osmotica del siero non è che uno dei coefficenti collaterali della integrità delle emazie, quali altri fattori concorrono a mantenerla od a variarla, nelle diverse condizioni naturali o sperimentali, in cui può versare l'organismo animale? Di questi eventuali fattori noi abbiamo cominciato per scegliere come oggetto delle nostre ricerche l'alcalinità del plasma.

Noi vedremo però che nemmeno i dati dell'alcalinità del plasma sono sufficienti a spiegare alcune particolari condizioni di resistenza delle emazie, specialmente in qualche classe dei

vertebrati. Onde, a noi non rimane che invocare in causa la struttura morfologica di questi elementi, alla quale pur troppo non si dà in generale il valore che merita.

Noi sappiamo infatti quale importanza sia stata attribuita recentemente, in seguito ai resultati concordi delle ricerche di Balbiani (1), Nussbaum (2), Le Dantec (3), Verworn (4), ecc., alla funzione nucleare nei processi integrativi delle cellule. Nè ci si può apporre la mancanza di nucleo nelle emazie dei mammiferi, giacchè, più che la presenza del nucleo come parte morfologicamente differenziata dell'elemento cellulare, nei processi ricordati ha somma importanza la presenza di « *sostanze nucleari* » più o meno diffuse, come le chiamò il Verworn. Ora le ricerche di Lilienfeld e Monti (5) con la reazione del fosforo col pirogallato d'ammonio e quelle più antiche di Wooldrige (6) hanno dimostrato la presenza di sostanze fosforate nell'interno dei corpuscoli rossi anche dei mammiferi, sostanze che noi possiamo immaginare come appartenenti alla categoria delle nucleine.

II.

I metodi adoperati nelle nostre ricerche sono i seguenti. Per la indagine della resistenza delle emazie ci siamo serviti del solito metodo delle soluzioni di $NaCl$ aventi una concentrazione progressiva (da gr. 0,12 a gr. 0,66 °/₀), e varianti l'una dall'altra respettivamente di gr. 0,02 °/₀. Per notizie particolareggiate su questo metodo vedasi un lavoro antecedente di uno di noi (7).

Per determinare la pressione osmotica del siero, abbiamo adoperato l'apparecchio di Beckmann; (una descrizione succinta di questi metodi vedasi in Fuchs) (8). Dieci cm^3 di siero limpido, ottenuto in seguito alla coagulazione spontanea del sangue, erano introdotti dall'apertura del tubo laterale nel cilindro a refrigerazione, per la cui apertura superiore passa il termometro di Beckmann e l'agitatore. Come miscuglio frigorifero

si adoperava una mescolanza di ghiaccio trito e sale di cucina, la cui temperatura era, quasi costantemente, di — 12°, — 14° C. Lo 0° del termometro era determinato ogni 4-5 giorni, e la lettura del punto di congelamento era fatta per mezzo di un cannocchiale.

Per la determinazione del grado di alcalinità del sangue si adoperò, con poche modificazioni, il metodo che dalla scuola di Zuntz fu sottoposto alle indagini più diligenti di riscontro (9). Si versano 3 cm^3 di sangue, esattamente misurati, in una provetta graduata di vetro a pareti spesse, contenente 12 cm^3 di una soluzione concentrata e perfettamente neutra di solfato di magnesio; si scuote diverse volte il miscuglio nella provetta e si procede subito alla centrifugazione, che dura venti minuti. Si ottiene così un plasma salato limpidissimo e molto diluito, bene adatto alla titolazione. Questa era eseguita nel modo seguente: si aggiungevano al plasma salato 3-4 goccie di una soluzione sensibilizzata di tornasole, e vi si faceva cadere goccia a goccia, da una buretta portante divisioni del decimo di centimetro cubo, una soluzione $^1/_{25}$ N. di acido tartarico. Per il termine della reazione si teneva conto sempre dello stesso tono di colore. Per i piccoli animali (rane, rospi, tartarughe, anguille) il sangue si raccoglieva mediante la decapitazione; nel cane e nel pollo si applicava una cannula alla carotide, facendo uscire una piccola quantità di sangue prima di raccogliere quello destinato alla titolazione.

III.

Noi non raduneremo i pochi dati che si trovano sparsi qua e là nella ricca letteratura ematologica e che possono, più o meno da vicino, riguardare il nostro argomento, sopratutto perchè più che i valori assoluti a noi importa stabilire i rapporti esistenti tra loro. Ricorderemo solamente che per ciò che riguarda la *resistenza*, dalle ricerche di Hamburger (10) risulta che le emazie di rana cominciano ad abbandonare la loro emo-

globina se immerse in una soluzione 0,64 °/₀ di NaCl o nel siero di sangue dello stesso animale diluito con 250 °/₀ di H_2O, le emazie d'uccello quando la diluizione è fatta con 130–200 °/₀ d'H_2O, le emazie di tinca quando la diluizione della soluzione salina o del proprio siero è fatta con 110-145 °/₀ d'H_2O, e finalmente le emazie di bove quando la diluizione è fatta con 60-90 °/₀ di H_2O.

Ricerche comparative sulla pressione asmotica del siero di sangue di animali appartenenti alle differenti classi dei vertebrati, eseguite col metodo crioscopico, non esistono, che noi sappiamo, mentre esistono molte determinazioni sul siero di vari mammiferi [Dreser (11), Winter (12)].

Indagini metodiche sul valore alcalimetrico del sangue nelle varie classi dei vertebrati sono state fatte solamente dal Drouin (13). Ma il metodo da lui adoperato non offre garanzie sufficienti, e d'altra parte i resultati da lui ottenuti discordano notevolmente da quelli riportati da osservatori precedenti. Nemmeno questi però sono utilizzabili, perchè le ricerche corrispondenti furono eseguite isolatamente e con metodi differenti. Sicchè, come per il punto di congelamento del siero di sangue, per ciò che riguarda l'alcalinità del plasma noi dobbiamo attenerci quasi esclusivamente ai resultati delle nostre ricerche, che sono, finora, le sole eseguite con uno stesso metodo e sistematicamente. Aggiungasi che non abbiamo trovato un solo dato riguardante il sangue di rospo e quello dell' Emys Europaea. Ciò non ostante vogliamo riportare i risultati del Drouin, che in seguito metteremo a confronto con i nostri. Secondo questo A. l'alcalinità di $^1/_2$ cm³ di siero, espressa in milligrammi di NaOH, è uguale:

nell'anguilla	a traccie non dosabili:			
nella rana	» mmg.	6,097	di	NaOH
nel cane	» »	6,281	»	»
nella testudo graeca . .	» »	13,340	»	»
nel pollo	» »	14,509	»	»

IV.

Sarebbe inutile e privo d'ogni interesse riportare le singole osservazioni da noi fatte. Ricorderemo che esse furono tutte eseguite nei mesi di gennaio e febbraio di quest'anno, che la temperatura della stanza dove erano tenute le soluzioni di NaCl e gli animali d'esperimento, e dove si eseguivano tutte le osservazioni, oscillò in quell'epoca fra 12° e 14° C, e che gli animali ordinariamente immersi nell'acqua (tritoni, tartarughe, anguille) o aventi la pelle molto umida ed anche bagnata (rane, rospi) erano diligentemente asciugati con panni e con carta bibula, prima della decapitazione. Alle tartarughe fu sempre legato l'esofago. S'intende che gli animali piccoli, come tritoni, anguille, rane ecc., furono adoperati a dozzine per ottenere la quantità di sangue bastante alle tre determinazioni contemporanee, che perciò vanno riferite al sangue misto di parecchi individui. Esponiamo i valori medi delle singole determinazioni, sopratutto perchè grandi oscillazioni dei limiti estremi di ciascun dato non esistono.

Ecco i resultati otttenuti:

A. — **Resistenza delle emazie.**

1. *Anguilla vulgaris:*	resistenza	massima	= 0,40-0,44
	»	minima	= 0,54-0,56
2. *Molge cristata:*	resistenza	massima	= 0,16-0,18
	»	minima	= 0,34-0,36
3. *Rana esculenta:*	resistenza	massima	= 0,12-0,14
	»	minima	= 0,36
4. *Bufo viridis:*	resistenza	massima	= 0,14-0,16
	»	minima	= 0,36
5. *Emys europaea:*	resistenza	massima	= 0,12-0,16
	»	minima	= 0,28-0,30
6. *Gallus bankiva:*	resistenza	massima	= 0,28-0,36
	»	minima	= 0,42-0,46
7. *Canis familiaris:*	resistenza	massima	= 0,36-0,40
	»	minima	= 0,54-0,56

B. — Pressione osmotica del siero.

1. *Rana esculenta:* Δ = — 0,563° C.
2. *Bufo viridis:* Δ = — 0,761° C.
3. *Emys europaea:* Δ = — 0,463°-0,485° C.
4. *Gallus bankiva:* Δ = — 0,°623-0,°633° C.
5. *Lepus cuniculus:* Δ = — 0,564° C.
6. *Canis familiaris:* Δ = — 0,°576-0,617 C.

C. — Alcalinità del plasma sanguigno

espressa in cm³ di soluzione $^1/_{25}$ N di acido tartarico necessari a saturare 100 cm³ di sangue:

1. *Anguilla vulgaris:* cm³ 39,9
2. *Rana esculenta:* cm³ 199,9
3. *Bufo viridis:* cm³ 206,5
4. *Emys europaea:* cm³ 216,6
5. *Gallus bankiva:* cm³ 248,9
6. *Canis familiaris*: cm³ 233,31.

Riassumiamo nella seguente tabella (tabella *A*) i nostri dati, mettendoli a confronto con quelli conosciuti d'altri autori.

Tabella A.

Animali	Resistenza delle emazie secondo Hamburger	Resistenza delle emazie secondo gli AA.	Alcalinità del sangue secondo Drouin	Alcalinità del sangue secondo gli AA.	Pressione osmotica del siero	Particolarità morfologiche degli eritrociti
Canis familiaris...	x + 60-90 % H_2O (Bos taurus)	0,54-0.56	6,281	233,31	—0°,576-0°617 C —0°,564 O	Anucleati.
Gallus bankiva....	x + 130-200 % H_2O	0,42-0,46	14,509	248,9	—0°,625-0°635 C	Nucleati.
Emys europaea...	—	0,28-0,30	13,340 (Testudo graeca)	216,6	—0°,463-0°648 C	»
Bufo viridis.......	—	0,36	—	206,5	—0°,761 C	»
Rana esculenta...	x + 250 % H_2O	0,36	6,097	199,9	—0°,563 C	»
Molge cristata....	—	0,34-0,36	—	—	—	»
Anguilla vulgaris.	x + 110-145 % H_2O (Tinca vulgaris)	0,54-0,56	(Traccie non dosabili)	39,9	—	»
	I numeri indicano la quantità di H_2O % con cui deve esser diluita una soluzione 0,64 % (x) di NaCl, perchè si verifichi la diffusione della emoglobina.	I numeri indicano il contenuto % in gr. di NaCl, della 1ª soluzione non colorata da emoglobina.	I numeri indicano in milligrammi di NaOH, l'alcalinità di cm³ 0,5 di siero.	I numeri indicano l'alcalinità di 100 cm³ di plasma sanguigno in cm³ di soluzione 1/25 N. di acido tartarico.	I numeri indicano l'abbassamento del punto di congelamento del siero in centigradi.	

In ciascuna di queste altre tabelle (B, C, D) abbiamo disposti i numeri degli altri osservatori ed i nostri in ordine crescente, con a lato il nome dell'animale corrispondente. In tal guisa si possono a colpo d'occhio rilevare le differenze riscontrate da noi nelle varie classi dei vertebrati. Per il significato dei singoli valori vedasi la tabella precedente.

Tabella B. — Resistenza delle emazie.

Animali	Secondo Hamburger	Secondo gli AA.	Animali
Rana esculenta..	x + 250 %. H_2O	0,28-0,30	Emys europea.
Gallus bankiva...	x + 130-200 %. H_2O	0,34-0,36	Molge cristata.
Tinca vulgaris...	x + 110-145 %. H_2O	0,36	Bufo vulgaris.
Bos taurus	x + 60-90 %. H_2O	0,36	Rana esculenta.
		0,42-0,46	Gallus bankiva.
		0,54-0,56	Anguilla vulgaris.
		0,54-0,56	Canis familiaris.

Tabella C. — Alcalinità del sangue.

Animali	Secondo Drouin	Secondo gli AA.	Animali
Anguilla vulgaris.	(Tracce non dosabili)	39,9	Anguilla vulgaris.
Rana esculenta...	6,097	199,9	Rana esculenta.
Canis familiaris..	6,281	206,5	Bufo viridis.
Testudo graeca..	13,340	216,6	Emys europea.
Gallus bankiva...	14,509	233,81	Canis familiaris.
		248,9	Gallus bankiva.
	In NaOH per $1/2$ cm³. di siero.	In soluzione $1/25$ N. di acido tartarico %.	

Tabella D. — Pressione osmotica del siero.

Animali	Secondo gli AA.
Emys europaea	— 0°,468 C — 0°,485 C
Rana esculenta	— 0°,563 C
Lepus cuniculus	— 0°,564 C
Canis familiaris	— 0°,576 C — 0°,617 C
Gallus bankiva	— 0°,623 C — 0°,638 C
Bufo viridis	— 0°,761 C (?)

V.

Dalle nostre ricerche risulta in modo evidente, che per ciò che riguarda la resistenza delle emazie si possono dividere gli animali da noi studiati in tre categorie; la prima a resistenza massima, comprendente la testuggine, il tritone, la rana, il rospo — un'altra in cui noi possiamo collocare i mammiferi in generale e l'anguilla, che hanno una resistenza inferiore delle emazie — e finalmente una terza rappresentata dal pollo, che stabilisce un anello di passaggio tra le due prime.

Per ciò che riguarda l'alcalinità del plasma, i valori da noi riscontrati potrebbero esser disposti in ordine inverso a quelli della resistenza, se non facessero eccezione da una parte l'anguilla, che presenta la minima alcalinità, a dall'altra il pollo il cui plasma ci ha dato il massimo valore alcalimetrico.

Da queste prime osservazioni risulta, che in generale non si può ammettere un parallelismo costante fra i due fattori finora presi in considerazione. Troviamo infatti che l'anguilla ha il minimo valore alcalimetrico, mentre presenta una resistenza non differente da quella dei mammiferi che l'hanno molto piccola; e per contro troviamo che il pollo, il quale, come si disse, stabilisce il passaggio fra gli animali a resistenza massima e

quelli a resistenza minima, presenta il massimo valore alcalimetrico. Nemmeno l'Emys nella tabella dell'alcalinità trovasi al primo posto, ma differendo poco l'alcalinità del suo plasma da quella degli anfibi, può formare con questi, come per la resistenza, un solo gruppo.

Ed ora passiamo a raffrontare i dati della pressione osmotica. Questi si schiererebbero in ordine crescente inverso a quello della resistenza, vale a dire che gli anfibi e la testuggine presenterebbero una pressione osmotica inferiore, mentre offrono una resistenza delle emazie maggiore, se anche qui il pollo non facesse eccezione presentando un valore osmotico superiore anche a quello del siero dei mammiferi.

Ora, lasciando da parte l'anguilla di cui non sapremmo spiegare la minor resistenza delle emazie e il minimo valore alcalimetrico del plasma (mentre ci manca anche il valore della pressione osmotica), noi possiamo, senza tema di errare, attribuire l'altezza tanto dell'alcalinità del plasma come della pressione osmotica del siero del pollo alla maggior concentrazione del suo sangue, un fatto da lungo tempo ben noto. Per il resto, appare chiara la mancanza d'ogni corrispondenza fissa fra i tre fattori da noi studiati. Solo nei mammiferi ad una resistenza delle emazie inferiore, relativamente a quella degli altri vertebrati, corrisponde una alcalinità del plasma ed una pressione osmotica del siero relativamente superiori. Sicchè solo per ciò che riguarda gli animali aventi globuli rossi nucleati deve essere notata l'incongruenza dei resultati da noi ottenuti. Questo fatto medesimo ci spinge a ricercare da una parte nella costituzione morfologica delle emazie, dall'altra nella maggior resistenza generale dei tessuti di questi animali la ragione dei fatti da noi constatati.

In altre parole esiste una certa indipendenza dei corpuscoli rossi del sangue dai fattori chimici e fisici del liquido in cui sono immersi, indipendenza che da un punto di vista teleologico può servire a difendere l'integrità degli elementi morfologici del sangue, specialmente degli animali poichilotermi, dalle continue e profonde variazioni dell'ambiente esteriore a cui essi così facilmente possono andare incontro.

Noi accennammo, nell' introduzione di questa nota, all' alta importanza fisiologica del nucleo e delle sostanze nucleari nei processi integrativi degli elementi cellulari. Possiamo ora aggiungere che molto probabilmente una delle espressioni di questa funzione nucleare sia una specie di azione chemiotattica interna positiva, una specie di attrazione costante verso l' emoglobina dello stroma. E non sarebbe fuori di luogo qui ricordare le ricerche di Brücke (14) sulla sostanza *zooide* ed *oicoide* delle emazie nucleate, e l' addensarsi del pigmento ematico intorno al nucleo in seguito all' azione di una soluzione 1 °/₀ di acido borico.

La dipendenza maggiore della resistenza delle emazie dei mammiferi a cedere l' emoglobina, dalla costituzione fisico-chimica del plasma, confrontata col dato morfologico della mancanza di un nucleo in quelle, conferma la nostra opinione. Senonchè tale condizione, che a prima giunta parrebbe costituire una inferiorità del tessuto sanguigno dei mammiferi, è senza dubbio compensata ad oltranza dall' esistenza di speciali forze regolatrici della pressione osmotica del siero e della temperatura interna di questi animali, e finalmente dalla sorprendente indipendenza loro dalle condizioni nocive dell' ambiente esteriore.

Onde noi crediamo, in seguito alle ricerche nostre ed alle considerazioni d' indole generale avanti ricordate, essere autorizzati a concludere:

1° Che tanto la resistenza delle emazie come l' alcalinità del plasma ed anche la pressione osmotica del siero sono considerevolmente diverse nelle varie classi dei vertebrati.

2° Che se nel sangue dei mammiferi può essere ammessa l' esistenza di rapporti reciproci fra integrità delle emazie e pressione osmotica ed alcalinità del sangue, negli animali aventi corpuscoli rossi nucleati tale corrispondenza manca.

3° Che molto probabilmente la presenza del nucleo ed una sua speciale chemiotassi interna positiva, diremmo quasi tonica, verso l' *Hb* dello stroma, o forse una combinazione più stabile di questa sostanza coi componenti del corpuscolo rosso possono solamente spiegare la maggior resistenza di questo a cedere l' *Hb* a soluzioni anche diluitissime di *NaCl*.

4° E che finalmente perciò sembra poco probabile che tale resistenza sia come par vogliano ammettere Hamburger (10) e Winter (12) l'espressione, e tanto meno la misura della pressione osmotica intracorpuscolare.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Balbiani, Recherches expérimentales sur la mérotomie des infusoires ciliés. (Rec. Zool. suisse, t. V.)

— Nouvelles recherches expérimentales sur la mérotomie des infusoires ciliés. (Ann. de micrographie, 1892 e 1893.)

(2) Nussbaum, citato dal Verworn (vedi sotto).

(3) Le Dantec, La matière vivente. — G. Masson, Paris, 1895.

(4) Verworn, Allgemeine Physiologie. — Jena, 1895.

(5) Lilienfel e Monti, Sulla localizzazione microchimica del fosforo nei tessuti. (Atti della R. Accad. dei Lincei. Rend. 1892, II, 9-10.)

(6) Wooldridge, Zur Chemie der Blutkörperchen. (Arch. f. Anat. u. Physiol., 1881, 387–411.)

(7) Bottazzi, Ricerche ematologiche. (Lo Sperimentale, anno XLVIII, Sez. biol., pag. 192 e 433, 1894.)

(8) Fuchs, Anleitung zur Moleculargewichtsbestimmung. — Leipzig, 1895.

(9) Loewy, Untersuchungen zur Alkalescenz des Blutes. (Pflüger's Archiv, 1894, S. 462.)

(10) Hamburger, in Rev. générale des sciences pures et appliquées, 30 Janvier 1893. — In questa pubblicazione sono citati tutti gli altri lavori dello stesso autore. Vedi anche Lambling, Le sang. (In Encycl. Chim. de Fremy, T. IX, 2e Section, 2e fasc., Paris, 1895.

(11) Dreser, Ueber Diurese und ihre Beeinflussung durch pharmakologische Mittel. (Arch. f. exper. Path. u. Pharmak., 1892, Bd. 29, pag. 303.)

(12) Winter, De la concentration moléculaire des liquides de l'organisme. (Arch. de Physiologie, Ve Série, T. 8, n. 1, 1896.)

(13) Drouin, Hémo-alcalimétrie, etc. — Paris, 1892.

(14) Brücke, Sitzungsber. d. Wiener Acad., 2 Abth. LVI, S. 79, 1867.

Istituto d' Igiene Sperimentale della R. Università di Roma.

MICRORGANISMI ED ENZIMI PRIVI D' AZOTO?

PER IL

DOTT. CLAUDIO FERMI

Libero docente d' Igiene.

Lo sviluppo talora rigoglioso su substrati privi d'azoto da parte di diversi ifomiceti, saccaromiceti ed oidi, che osservai diversi anni or sono nel corso di ricerche istituite sulle secrezioni di enzimi e di albuminoidi per opera dei batteri (1), nonchè la variabilità ed instabilità nella composizione del corpo dei microbi notata da vari autori, per cui secondo Vandewelde (2) e Vincenzi (3) il sottile non conterrebbe cellulosa, mentre la membrana del Leunostoc mesenterioides, secondo Scheibler e Durin (4) sarebbe, quasi unicamente costituito dalla medesima, e il Naegeli e il Löw (5) troverebbero una percentuale variabile di azoto da 5 a 7 a 11 % in una cultura di un micrococco coltivato su tartrato ammonico, e invece nella *madre dell' aceto* soltanto 1.82 %, mi condussero alcuni anni or sono a ricercare, se fosse possibile, *la vita senza azoto e se quindi si potessero trovare esseri viventi il cui corpo non contenesse traccia di questo elemento*, e se *gli enzimi eventualmente prodotti in queste condizioni fossero dei corpi*

(1) Claudio Fermi, *Weitere Untersuchungen ueber die Tryptischen Enzyme der Microorganismen.* (Archiv für Hygiene, 1892, V. 14.)
(2) Vandewelde, *Zeitschrift für Physiologische Chemie*, V. 8.
(3) Vincenzi, *Ueber die chemische Bestandtheile der Spaltpilze.* (Zeitschrift für Physiol. Chemie, V. XI, pag. 181.)
(4) Scheibler und Durin, citato da De Bary, pag. 493.
(5) Citati da Flügge.

non azotati, quesiti che così esplicitamente non erano, e non sono ancora, stati posti.

Lo studio recente del Winogradsky [1], il quale fra varie specie studiate non trovò che un clostridrio capace di fissare l'azoto atmosferico, nonchè le ricerche del Zinno, mi spinsero a completare le mie ricerche.

A. — Vita e microrganismi senza azoto.

Metodi di ricerca. — Coloro che si occuparono di questo argomento possono dividersi in due categorie: quelli i quali studiarono semplicemente la fissazione dell' azoto atmosferico (Berthelot, Winogradsky) e quelli che analizzarono più o meno completamente la composizione dei microrganismi (Nencki [2], Cramer [3], ecc.). Nessuno di questi lavori può rispondere al quesito che mi son posto, perchè nessun sperimentatore osservò tutte le cautele seguenti:

1° Di servirsi di culture pure;

2° Di usare substrati e recipienti completamente privi di azoto;

3° Di analizzare quantità grandi di materiale;

4° Di servirsi di un metodo per la ricerca dell' azoto molto più sensibile di quello del Kyeldall;

5° Di ripetere le analisi su culture di diverse età;

6° Di non dimenticare mai di fare contemporaneamente analisi sugli stessi microrganismi coltivati su substrati azotati.

Io quindi:

Metodo di ricerca. — 1° Da culture pure in agar di 24-48 ore feci innesti in una soluzione di saccarosio chimicamente puro;

---

(1) Winogradsky, *Récherches sur l'assimilation de l'azote libre, etc.* (Archives des Sciences biologiques, 1894, vol. III.)

(2) Nencki, *Ueber das Eiweiss der Milzbrandbacillen.* (Berichte der deutschen chem. Gesellschaft, Vol. XVII, S. 2608.)

(3) Cramer, *Die Zusammensetzung der Bacterien.* (Arch. f. Hygiene, V. 16, pag. 151.)

da questa un passaggio in una seconda e dalla seconda in una terza e da questa finalmente nella soluzione che doveva venire analizzata, e ciò per eliminare anche quelle piccolissime quantità di albuminoidi che avrei potuto asportare dall'agar.

2° Adoprai il substrato più puro e più semplice, cioè una soluzione al 3 °/₀ di acqua distillata di saccarosio purificata col metodo di Soxlet, e mi assicurai preventivamente che non contenesse assolutamente azoto, ricercandolo sul residuo di venti litri di soluzione. I recipienti di cui mi servivo venivano bolliti per un'ora in una soluzione di permanganato potassico e acido solforico, quindi lavati con acqua distillata, poi con acido ossalico e infine di nuovo e ripetutamente con acqua distillata e asciugati completamente.

3° Di ogni specie di microrganismi innestai molti fiaschi contenenti ciascuno uno o due litri della soluzione di saccarosio, per cui potei operare su quantità relativamente grandi, fino a 1-2 grammi di sostanza secca pura.

4° Per ricercare l'azoto non mi servii del metodo di Kyeldall, che, se ottimo per le analisi quantitative, non è abbastanza sensibile da svelare la presenza (la quantità a me non importava) di minime traccie di azoto, ma bensì di quello estremamente più sensibile del Lassaigne (arroventamento del materiale perfettamente secco con sodio metallico, bollitura previa aggiunta di idrato sodico e di una soluzione di un sale *ferroso ferrico*, filtrazione e aggiunta al filtrato di acido cloridrico chimicamente puro, precipitato o colorazione bleu intensa di *ferrocianuro ferrico* in caso di presenza di azoto sotto qualsiasi forma). Naturalmente i reagenti erano purissimi e i recipienti in cui facevo le reazioni liberati dalle sostanze organiche nel modo suddetto.

5° Feci le analisi su culture di 15, 30 o 60 giorni.

6° Per controllo coltivai gli stessi microrganismi su soluzioni di glucosio con tartrato e fosfato ammonico in varie proporzioni.

Microrganismi. — Esperimentai anzitutto su culture pure od unite a due di ifomiceti, saccaromiceti ed oidii; diversi di questi saccaromiceti ed oidii vennero isolati dall'ambiente: di-

stinguerò i primi con numeri romani e con lettere i secondi; quindi le specie su cui sperimentai furono:

1° Aspergellus niger.
2° Penicillium glaucum.
3° Saccaromyces ellypsoydeus.
4° id. Rivoltae.
5° id. I.
6° id. II.
7° id. III.
8° id. IV.
9° Oidium *a*.
10° id. *b*.
11° id. *c*.
12° id. *d*.
13° id. *e*.
14° id. *f*.

15° Inoltre estesi le mie ricerche sopra tutti quei microrganismi dell'aria, dell'acqua e del suolo ottenuti mescolando in un bicchiere acqua, terreno, concime, infusi di frutta delle più svariate provenienze, ecc., e versandone una goccia nei fiaschi.

Culture in presenza e in assenza di azoto atmosferico. — Le culture che volevo mantenere in contatto coll'azoto atmosferico venivano semplicemente chiuse col solito tappo d'ovatta, per quelle che dovevano venire conservate in assenza del predetto gas facevo così: riempivo i recipienti sino alla bocca del liquido di cultura (sol. di saccarosio) chiudevo i medesimi con tappi di gomma perforati e li facevo bollire per un'ora circa alla fiamma diretta; ciò fatto riempivo di nuovo il recipiente sino alla bocca colla stessa soluzione bollente contenuta in un altro recipiente e poscia chiudevo colla bacchetta di vetro il foro. L'aria veniva così cacciata completamente. Lasciavo ora raffreddare, innestavo rapidamente il recipiente attraverso i foro del tappo e richiudevo di nuovo.

Metodo di analisi. — Ottenevo il materiale d'analisi dall culture in due modi: *a*) Raccoglievo il micelio da 10-20 litr

di cultura mediante una pulitissima bacchetta di vetro, lo portavo in tubi di vetro resi chimicamente puri nel modo su descritto e lo disseccavo nella stufa a 110° C. — *b*) Evaporavo le culture a 50° riducendo i 10-20 litri a mezzo litro e poscia precipitavo con acido fosfowolframico ed acido cloridrico; filtravo e lavavo con soluzione di HCl sino al completo allontanamento dell' acido fosfowolframico e disseccavo come sopra.

I miceli delle culture di controprova (su sali di ammonio) venivano avanti lavati per 5 giorni sul filtro con acqua distillata.

Il materiale secco veniva poi analizzato col metodo di Lassaigne suddescritto.

Esame microscopico delle culture. — Oltre l'analisi chimica feci pure l' esame microscopico comparativo delle culture sopra substrati azotati e non azotati, per rilevare le eventuali differenze nella morfologia e nella colorabilità.

TABELLA DELLE

Nome dei microrganismi	Età delle culture		Quantità del materiale impiegato		Quantità del materiale analizzato	
	Soluzione di saccarosio	Soluzione di saccarosio e sali d'ammonio	Soluzione di saccarosio	Soluzione di saccarosio e sali d'ammonio	Soluzione di saccarosio	Soluzione di saccarosio [illegible]
Aspergillus niger	15 g.	15 g.	litri 10	litri 2	gr. 0,42	gr. [illegible]
	31 g.	31 g.	» 10	» 2	» 0,63	» [illegible]
	62 g.	62 g.	» 10	» 2	» 0,98	» [illegible]
Penicillium glaucum	15 g.	15 g.	litri 9	litri 2	gr. 0,5	gr. [illegible]
	30 g.	30 g.	» 12	» 2	» 0,76	» [illegible]
	60 g.	60 g.	» 10	» 2	» 0,81	» [illegible]
Blastomiceta 1 e Saccaromyces Ellypsoydeus	30 g.	30 g.	litri 10	litri 4	gr. 0,26	gr. [illegible]
	30 g.	30 g.	» 9	» 3	» 0,5	» [illegible]
	60 g.	60 g.	» 11	» 3	» 0,76	» [illegible]
Blastomiceta 2 e Saccaromyces Rivoltae (Fermi e Aruch)	30 g.	30 g.	litri 8	litri 4	gr. 0,5	gr. [illegible]
	60 g.	60 g.	» 10	» 3	» 0,61	» [illegible]
Blastomiceta 3 e 4	15 g.	15 g.	litri 7	litri 4	gr. 0,5	gr. [illegible]
	33 g.	33 g.	» 11	» 3	» 0,7	» [illegible]
Oidium *a* e *b* (1)	17 g.	17 g.	litri 8	litri 4	gr. 0,4	gr. [illegible]
	31 g.	31 g.	» 10	» 3	» 0,7	» [illegible]
Oidium *c* e *d*	14 g.	14 g.	litri 7	litri 4	gr. 0,5	gr. [illegible]
	36 g.	36 g.	» 9	» 3	» 0,[illegible]	» [illegible]
Oidium *e* e *f*	16 g.	16 g.	litri 10	litri 4	gr. 0,[illegible]	gr. [illegible]
	30 g.	30 g.	» 9	» 3	» 0,[illegible]	» [illegible]
Microrganismi dell'aria, acqua, suolo, infusioni vegetali, ecc., ecc.	18 g.	18 g.	litri 9	....	gr. 0,4	....
	29 g.	29 g.	» 9	litri 4	» [illegible]	gr. [illegible]
	35 g.	35 g.	» 10	» 3	»	» [illegible]

SPERIENZE.

dell' Azoto reazione ...saigne — dalle culture sul saccarosio e sali d'ammonio	Esame microscopico delle culture — Su saccarosio	Esame microscopico delle culture — Su saccarosio e sali d'ammonio
si	Non sporè, micelio sottile, molti vacuoli, irregolarmente colorabile.	Molte spore, micelio più grosso con meno vacuoli, regolarm. colorabile.
si	id.	id.
si	id.	id.
si	Come per l'aspergillus niger.	Come per l'aspergillus niger.
si	id.	id.
si	id.	id.
si	Le cellule specie dell'ellissoideo sono spesso più grosse e a contenuto omogeneo e ialino, rarissimi granuli.	Forme regolari.
si	id.	id.
si	id.	id.
si	Per lo più forme regolari, molte cellule contenuto ialino, poco splendenti.	Forme regolari.
si	id.	id.
si	Non fu fatto.	Non fu fatto.
si	id.	id.
si	Non fu fatto.	Non fu fatto.
si	id.	id.
si si	Filamenti molto più sottili, con più vacuoli, membrana meno appariscente, granuli meno splendenti; talora quella sostanza ialina osservata, con blastomiceti.	Forme regolari.
si si	Come negli oidii *d* e *f*.	
....	Riscontrai bacilli lunghi e sottili e qualche coccobatterio, molti oidii e blastomiceti a parete sottile. Contenuto granuloso.	
si		Forme svariatissime.
si		id.

Lascio per brevità i risultati ottenuti dalle culture fatte in assenza dell' azoto atmosferico perchè diedero uguale risultato. In nessun caso, come era da aspettarsi, l'analisi rivelò mai traccia d' azoto.

Risultati. — Come si vede dalla tabella precedente *Saccaromiceti, oidii ed ifomiceti e tutti quei microrganismi dell' ambiente coltivabili sopra saccarosio puro si sviluppano, producono inversina* (come si vedrà più sotto), *ma non si riesce a dimostrare traccia d' azoto nei medesimi mentre si rileva sempre questo elemento quando vengono coltivati sopra sali di ammonio.*

B. — Enzimi.

Limitai le mie ricerche all' *inversina* ed all' *enzima proteolitico*, perchè da mie precedenti ricerche risulta (1) che l' enzima *diastatico* ed il *coagulante* non vengono prodotti su terreni privi di albumina.

Metodi di ricerca. — a) *Inversina.* Mi servii di culture fatte sopra soluzioni di saccarosio 3 °/₀ e glicerina 5 °/₀ preparate osservando le cautele già dette. Dopo 15-30-60 giorni circa dell' innesto, mi assicurai se l' enzima era stato prodotto in sufficiente quantità e poscia filtrai tutte le culture col filtro Chamberland ed evaporai il filtrato a 50° C. Sul residuo secco ricercai l' azoto col solito metodo (Lassaigne).

Microrganismi. — Per raccogliere l' *inversina* prodotta su saccarosio mi servii di tutte le culture precedenti; per raccogliere lo stesso enzima prodotto sulla glicerina sperimentai soltanto sull' aspergillus niger, il solo, come dimostrai, che produca sulla medesima *inversina* in quantità sufficiente.

Risultato. — *L' analisi non rivelò traccia di azoto nell' enzima inversivo, dei saccaromiceti, degli oidii, nè degli ifomiceti.*

b) *Enzima proteolitico.* Siccome in precedenti ricerche avevo trovato che alcuni microrganismi (B. prodigiosus e b. pyocyaneus

(1) Claudio Fermi, *Weitere Untersuchungen ueber die tryptischen Enzyme der Mikroorganismen, etc.* (Loc. cit.)

neus) non producono enzima proteolitico, soluzioni di sali di ammonio e saccarosio, mentre lo secernono in discreta quantità su soluzioni degli stessi sali e glicerina, mi servii in questa ricerca soltanto delle altre fatte su glicerina pura al 5 %.

Metodi di ricerca. — Seguii lo stesso metodo già descritto più sopra.

Microrganismi. — Microbi che vivono in glicerina pura 5 % sono pochissimi, di questi poi che producono un enzima proteolitico non ne trovai che uno solo (insieme a Montesano), un *b. fluorescente.*

Risultato. — *L'analisi non mi rivelò traccia di azoto nell' enzima proteolitico isolato.*

Queste ricerche sulla composizione degli enzimi verranno ripetute con quantità anche maggiori di materiale.

Conclusioni.

1° *Non ho trovato nessun microrganismo fra i moltissimi studiati che essendo coltivabile sul saccarosio puro 5 % fissi l' azoto atmosferico. In ciò le mie ricerche concordano con quelle del Winogradsky.*

2° *Vi sono microrganismi appartenenti specialmente ai saccaromiceti, agli oidii ed ifomiceti nei quali, anche con i metodi più sensibili, non si riesce a dimostrare tracce d' azoto se coltivati su substrati non azotati. Questi microrganismi sarebbero quindi costituiti esclusivamente di composti ternari.*

3° *È possibile la produzione dell' enzima proteolitico ed inversivo da parte di alcuni microrganismi in substrati privi di azoto.*

4° *L' inversina e l' enzima proteolitico possono essere dei corpi non azotati. È possibile che come varia la composizione del protoplasma e degli albuminoidi vari pure quella degli enzimi.*

5° *È possibile la vita in assenza dell' azoto, e di sali minerali.*

7 giugno 1896.

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile.*

Dalla Divisione infantile della Policlinica generale di Vienna
diretta dal prof. Monti.

DELLA STOMATITE AFTOSA

PEL

DOTT. AMEDEO LEVI.

È merito del nuovo indirizzo, assunto in questi ultimi anni dalle mediche discipline, l'aver attratta l'attenzione su alcuni processi morbosi della bocca e della retrobocca che, benchè conosciuti da lungo tempo, non solo presentano ancora oggidì una patogenesi molto oscura, ma sono spesso confusi dagli autori e chiamati con nomi diversi secondo la diversa interpretazione patologica. Fu il Miller il primo, col suo famoso trattato sui microrganismi della bocca, che cercò di diradare le tenebre addensate intorno al complicato argomento, ma le osservazioni e le esperienze sono ancora troppo scarse e molte volte contraddittorie, per poterne dedurre delle conclusioni positive.

Per queste ragioni io sono oltremodo grato al mio illustre Maestro, prof. Monti, d'avermi affidato il non facile incarico di studiare quella fra le malattie della bocca, che nell'età infantile è la più frequente di tutte, e intorno a cui i dubbi e le contraddizioni sono forse maggiori, vale a dire, la stomatite aftosa. E sento ancor più viva la mia riconoscenza inquantochè questo studio non mi sarebbe stato possibile, se il Monti non fosse stato così gentile di porre, per più d'un anno, a mia di-

sposizione il ricco materiale della sua Clinica e del Laboratorio e d'appoggiarmi sovente coi suoi preziosi consigli.

La stomatite aftosa è, secondo la massima parte degli autori, un'infiammazione acuta della mucosa orale caratterizzata da deposizioni fibrinose in forma di macchie bianche o gialle dalla grandezza d' un grano di canape a quella d' una lenticchia.

Billard e molti altri considerano la malattia come un' infiammazione dei follicoli mucipari della cavità orale, infiammazione che dà luogo alla formazione di piccoli tumoretti od ulcerazioni secondo lo stadio della malattia.

Vogel e Biedert considerano le afte come ulcerazioni e identificano la stomatite aftosa e la ulcerosa.

Escherich crede trattarsi di vescichette il cui contenuto coagula; Rilliet e Barthez di vescichette che si trasformano più tardi in ulcerazioni. (*Stomatite vésico-ulcèreuse* di Rilliet e Barthez).

Monti definisce la stomatite aftosa come un' infiammazione della mucosa orale che dà luogo a deposizioni d' un essudato fibrinoso al di sopra e al di sotto dell'epitelio. Secondo me, solo quest' ultima definizione corrisponde alla verità, come vedremo trattando dell'anatomia patologica.

Etiologia e Patogenesi.

La stomatite aftosa è malattia dell' infanzia. Nell' età adulta si presenta solo di rado e, per lo più, nella donna durante la mestruazione, il puerperio e l'allattamento. Afte isolate possono presentarsi nei giovani fumatori. Su 181 casi Bohn riscontrò la malattia soltanto 12 volte negli adulti. Io raccolsi i casi di stomatite aftosa presentatisi alla Policlinica di Vienna dal 1888 a tutto il 1895, nello spazio cioè di 8 anni. In questo periodo di tempo furono osservati 496 casi di stomatite aftosa fra 52,382 bambini ammalati, ciò che rappresenta una percentuale di frequenza del 0,946 %. Di questi, 90 caddero sotto la

mia osservazione dal dicembre 1894 al gennaio 1896, e precisamente maschi 33 e femmine 57. Dei 496 pazienti, 221 erano maschi, 275 femmine.

Il Monti nello spazio di 16 anni osservò 587 casi di stomatite aftosa, che considerati in rapporto alla cifra totale dei malati, che fu di 58,761, rappresentano il 0,998 % di frequenza. Dei 587 malati, 278 erano maschi, 309 femmine. Addizionando i risultati miei a quelli del Monti, s'ottiene:

Ammalati.	111,143
Stomatite aftosa	1083
Perc. di frequenza	0,972
Maschi	499
Femmine.	584

Da una statistica di 111,143 malati noi possiamo perciò concludere:

1. Che la stomatite aftosa s'osserva nei bambini con una frequenza del 0,972 %, cioè di circa l'1 %;

2. Che la stomatite aftosa si presenta un pò' più di frequente nella donna che nell'uomo. A questa preponderanza, già osservata dal Monti e da altri, non credo si debba però attribuire una particolare importanza.

La stomatite aftosa coglie i bambini di ogni costituzione. In seguito all'osservazione di 90 casi, io non posso confermare l'opinione di Billard, Rilliet e Barthez ed altri che essa colga di preferenza i bambini deboli e linfatici. Il Monti ha bensì osservato, ed io potei riconfermare, che la malattia si presenta assai spesso nei rachitici, ma non credo che ciò stia in rapporto con la più debole costituzione, ma invece coi disturbi dell'apparecchio digerente a cui tali bambini sono soggetti e, come il Monti osserva, alla frequente presenza di denti cariati.

In quanto all'età, la stomatite aftosa riscontrasi anche nei lattanti, la malattia è però molto rara prima della dentizione. Il Monti non l'osservò mai nel neonato. Fra i 496 casi da me raccolti, ne ho trovato soltanto uno di 14 giorni ed un altro di 28. Bednar osservò un caso ogni 100 neonati; Bohn

tre fra 169 nel primo mese di vita; altri casi sono citati da Denis e Billard. Ciò malgrado io sono dell' opinione del Monti che, in tutti questi casi, non siasi trattato probabilmente di vera stomatite aftosa, ma di singole afte isolate.

I 496 casi da me raccolti sono così ripartiti:

sotto il 6° mese	casi	16
dal 6° al 10°	»	37
dall' 11° mese al 2° anno	»	151
dal 2°-3° anno	»	99
dal 3°-4° »	»	55
dal 4°-5° »	»	42
dal 5°-6° »	»	34
dal 6°-7° »	»	13
dal 7°-14° »	»	49

Aggiungendo a questi i casi del Monti, s' ottiene su casi 1083:

sotto il 6° mese	casi	26
dal 6° al 10°	»	85
dall' 11° mese al 2° anno	»	452
dal 2°-3° anno	»	205
dal 3°-4° »	»	100
dal 4°-5° »	»	63
dal 5°-6° »	»	55
dal 6°-7° »	»	26
dal 7°-14° »	»	71

La stomatite aftosa è perciò molto rara prima dell' epoca della 1ª dentizione, è un po' più frequente dal 6° al 10° mese, aumenta straordinariamente di frequenza fra l' 11° mese e il 4° anno, raggiungendo la cifra più elevata durante il 2° anno, poi diminuisce rapidamente, diventando di nuovo rara verso l' epoca della pubertà.

Il raro presentarsi della stomatite aftosa prima della dentizione sta probabilmente in rapporto all' uniforme alimentazione in questo periodo della vita del bambino e alla cura mag-

giore con cui le madri attendono alla pulizia della bocca del poppante. È ormai fuori di dubbio che un'igiene scrupolosa della bocca costituisce il più importante momento contro l'insorgere d'una stomatite; ora queste norme vengono più facilmente osservate nei primi mesi della vita che nei successivi, quando i bambini cominciano a prendere alimenti non del tutto liquidi, senza aver appreso ancora a ben deglutire, così che residui di cibo si fermano nella bocca e vengono decomposti facilmente. Secondo la maggior parte degli autori, anche la dentizione di per sè stessa costituirebbe una causa predisponente alla malattia.

L'infiammazione gengivale, l'aumentata secrezione salivare, la temperatura della bocca più elevata che d'ordinario, fatti che così spesso accompagnano la dentizione, favorirebbero lo sviluppo dei microrganismi e la decomposizione dei resti di cibo.

West, Bohn, Henoch avrebbero osservato che la stomatite accompagna per lo più lo spuntar d'uno o più denti e che, in prossimità al nuovo gruppo di denti, le afte sono più numerose. L'importanza di questi fatti aumenterebbe dal 11° mese al 2° anno, aggiungendosene di nuovi, quali lo spuntare dei molari, degli incisivi laterali e canini.

Nella 2ª dentizione la stomatite aftosa si presenta molto raramente, perchè la masticazione e la deglutizione si compiono omai regolarmente e non esistono più le condizioni favorevoli allo sviluppo dei batteri.

Kassovitz nega alla dentizione ogni importanza come elemento predisponente allo svolgersi della stomatite aftosa. Egli osserva che, benchè la stomatite aftosa sia tutt'altro che rara nell'infanzia, pure è poco frequente in relazione al numero dei bambini. Egli ammette bensì che la maggior parte dei casi di stomatite aftosa si presentino in quest'età, ma non li fa dipendere dai fenomeni della dentizione, ma dal fatto che, essendo la stomatite aftosa una malattia infettiva, è appunto in quest'epoca della vita che i bambini offrono la disposizione maggiore a quasi tutte le infezioni, specialmente agli esantemi e ai catarri infettivi, tanto è vero che la frequenza riguardo

all' età è per tutte queste forme morbose pressochè eguale. Per quanto le ragioni addotte dal Kassovitz possano essere seducenti e apparentemente persuasive, non si possono negare alcuni fatti di giornaliera osservazione. Io stesso potei vedere il confluire delle afte in vicinanza ai denti e, d'altra parte, è ammesso anche oggidì da quasi tutti i pediatri che la dentizione può dar luogo a fatti infiammatorî, salivazione, ecc.

Comunque sia, la più importante causa predisponente della stomatite aftosa è sempre la decomposizione dei resti di cibo in causa della trascurata igiene della bocca. Inoltre sono da considerarsi come veri elementi predisponenti i cibi irritanti o facilmente decomponibili (formaggio, frutta, zucchero, cibi troppo caldi, salati, ecc.). Allo stesso modo agirebbero, producendo probabilmente un' irritazione, alcuni medicamenti, jodio, arsenico, antimonio, preparati mercuriali, ecc. In questi casi trattasi però, per lo più, di singole afte, come io potei osservare ultimamente in una bambina dopo una piccola dose di calomelano.

La stagione sembra avere una certa importanza nell'etiologia della stomatite aftosa. I casi osservati dal Monti sono così ripartiti:

Gennaio . . .	27	Luglio	81
Febbraio . . .	27	Agosto	82
Marzo	30	Settembre . .	52
Aprile	48	Ottobre . . .	51
Maggio	53	Novembre . .	49
Giugno	71	Dicembre . .	16

vale a dire 387 casi nei mesi più caldi, 200 nei più freddi.

Dei 496 casi da me osservati:

Gennaio . . .	25	Luglio	62
Febbraio . . .	19	Agosto	68
Marzo.	33	Settembre . .	43
Aprile	47	Ottobre. . . .	45
Maggio	51	Novembre . .	32
Giugno	54	Dicembre . .	17

e cioè: 325 nei mesi caldi, 171 nei mesi freddi.

Addizionando s'ottiene:

casi	1083
nei mesi caldi	712
nei mesi freddi	371

Da queste cifre resulta l'influenza delle temperature elevate nell'etiologia delle afte, ciò che probabilmente dipende dal fatto che tutti i processi di decomposizione sono più attivi ad alta temperatura.

La stomatite aftosa osservasi molto frequentemente associata ad altri processi patologici, che molto spesso ne sono essi stessi una causa predisponente. Tutte le malattie locali della bocca hanno, a questo proposito, la massima importanza. La carie dei denti è essa stessa molto sovente una causa della stomatite aftosa, così dicasi dello stomacace, del mughetto e delle varie forme d'angina che sono spesso associate alla stomatite. Si osservano inoltre afte nella maggior parte delle malattie acute febbrili forse in causa dell'aumentata temperatura, e in molti processi cronici che indicano un'alterazione del ricambio o della crasi del sangue. Io osservai con maggiore frequenza la stomatite aftosa nella bronchite, nella pertosse, nello stomacace, nelle malattie del canale gastroenterico, nel rachitismo ecc., ecc., secondo la seguente tabella.

Mughetto	2	Ittero catarrale	1
Stomacace	12	Orticaria	2
Carie dei denti	6	Eczema	13
Angina catarrale	3	Peritonite tubercolare	1
Angina follicolare	4	Linfadenite tubercolare	2
Corizza	3	Rachitide	11
Ipertrofia tonsillare	1	Scrofolosi	4
Laringite catarrale	4	Clorosi	1
Laringospasmo	1	Sifilide congenita	2
Pertosse	10	Morbillo	3
Bronchite	35	Scarlattina	1
Broncopneumonite	4	Varicella	1
Pneumonite crupale	3	Parotite	1
Dispepsia	4	Reumatismo articolare acuto	1
Catarro gastroenterico	11	Psoriasi	1

Un fatto importante nell' etiologia della stomatite aftosa è il rapporto esistente fra questa malattia e l' afta epizootica. Vi sono autori, specialmente francesi, (Ruault nel grande manuale di Charcot) che identificano le due malattie ed ammettono anzi come unica causa della stomatite aftosa l'infezione prodotta dal latte proveniente da animali affetti di afta epizootica. Altri invece negano che si tratti dello stesso processo. Schech crede che esista una differenza assoluta, così pure lo Stooss, benchè quest' ultimo autore dichiari di non avere in proposito un' esperienza propria.

Demme (nel 21° Jahresbericht dell' Jennerspital) riferisce d' aver osservato contemporaneamente la stomatite in due gemelli, e d' aver potuto stabilire con certezza che la causa della malattia era il latte proveniente da una capra infetta.

Il Weissemberg, alla Berliner medizinische Gesellschaft, riferì un caso d' un ragazzo di 7 anni il quale, dopo aver presentato per 2 giorni fenomeni generali gravi, fu colto da un' eruzione di vescichette bianche alle labbra, alla mucosa delle guancie, alla lingua, con salivazione ecc. Anche in questo caso potè esser provato che la malattia era da imputarsi al latte d' una vacca infetta.

Amyant, Knyerim, Faggan, Cavazzani, Huliu, ecc., riferiscono casi analoghi.

Considerate le opinioni varie dei singoli autori e i sintomi della malattia, non ci sembra sostenibile che la stomatite aftosa e l'afta epizootica sieno processi identici. È certo che l'infezione prodotta dal latte infetto dà luogo ad una forma di stomatite caratterizzata da un' eruzione aftosa o vescicolare; ma i caratteri stessi dell' eruzione e i gravi sintomi generali che spesso l' accompagnano sono sufficienti a differenziare i due processi. La forma di stomatite, consecutiva all' introduzione di latte proveniente da animali affetti da afte, si presenterebbe inoltre anche in forma epidemica. Già il Guersant stabiliva la distinzione fra afte confluenti e discrete. Le prime si mostrerebbero in certi paesi, nè sarebbe esclusa un' influenza epidemica. Si vedono spesso in Olanda. Il dott. Schonenberg dà il nome di afte indiane alle afte gravi osservate a Haiti e Porto-Rico.

Secondo il Siegel, che descrisse una grande epidemia che infierì, dall' autunno 1888 alla metà del 1891, nel villaggio di Britz presso Berlino con una popolazione di circa 9000 abitanti (di cui quasi la metà morì), la malattia manifestavasi in forma di vescichette trasparenti alla mucosa orale, talora agli avambracci e alle gambe, con gonfiore gengivale, ulcerazioni e spesso formazioni papillomatose, edema mostruoso della lingua, emorragie della mucosa della bocca, del naso, dell' intestino, dei reni, dei polmoni; alla cute petecchie, nel tessuto congiuntivo emorragie ricordanti il morbo maculoso di Werlhof o lo scorbuto. Il Siegel stesso crede non possa trattarsi della stessa forma osservata in modo sporadico nei bambini.

Io non ho assolutamente alcuna esperienza in proposito. Un fatto però potei constatare, e cioè che la stomatite osservasi nei bambini anche quando il contagio col latte può essere escluso in via assoluta. In molti dei 90 casi da me osservati io potei ottenere la certezza che i bambini non avevano presa una sola goccia di latte che non fosse stato precedentemente sterilizzato, senza pure voler tener conto di quelli allattati dalla madre.

La stomatite aftosa è malattia contagiosa; può essere comunicata coi bicchieri, con gli utensili, con gli stracci, ecc. Benchè la contagiosità sia dal Bohn considerata un errore, fondato sul fatto che più bambini e specialmente fratelli possono ammalare contemporaneamente, essa è ammessa da quasi tutti gli altri autori (Taupin, Henoch, ecc.). Già il Monti la riscontrava 31 volte in due o più fratelli contemporaneamente. Io potei riscontrarla 11 volte.

Il Monti ritiene come certa la contagiosità e, secondo lui, il contagio risederebbe nell' epitelio e nel secreto delle afte; la saliva da sè sola sarebbe inefficace a propagare la malattia. Ciò malgrado è stato fino ad ora impossibile di determinare la malattia negli animali, ed anche le mie esperienze, come vedremo, riuscirono negative.

La malattia può osservarsi parecchie volte nello stesso individuo. Henoch cita un caso di un bambino di 14 mesi che dal 4° mese aveva già avuto 5 attacchi di stomatite aftosa la

quale si ripeteva allo spuntare d' ogni nuovo gruppo di denti e spariva subito dopo.

In quanto alla vera causa della malattia si pensò in questi ultimi tempi, che potesse essere un agente infettivo speciale.

Che la stomatite aftosa sia una malattia infettiva appare già dai suoi caratteri, il decorso tipico, la febbre che non manca mai ed ha i caratteri d' una febbre infettiva, la partecipazione delle ghiandole vicine, il manifestarsi del male a date epoche e in dati luoghi, le endemie domestiche, la contagiosità. Anche lo stesso fatto che le afte guariscono spesso con qualsiasi trattamento od anche senza, dopo un decorso di circa due settimane, come s' osserva nei processi acuti infettivi, parla a favore del carattere infettivo del male. Malgrado ciò, le ricerche dirette a stabilire quale sia l' elemento infettivo sono molto scarse.

E. Fränkel (nel 1888) ha trovato in 3 casi di stomatite aftosa, col procedimento delle colture, una volta lo stafilococco aureo, due volte il citreo e li considera come gli eccitatori della malattia. Con l' esame microscopico diretto non potè mai riscontrare microrganismi speciali. Feer in un bambino d'un anno e mezzo trovò lo stafilococco aureo. Stooss che studiò 14 casi, riscontrò:

1° un grosso diplo-streptococco in tutti i casi;

2° lo stafilococco albo, aureo e citreo soltanto in qualche caso;

3° il coccus conglomeratus non in numero rilevante;

4° bacilli e spirilli in piccola quantità.

Lo Stoos attribuisce la massima importanza al grande diplostreptococco che egli considera come l'agente specifico della stomatite aftosa. Dall'Acqua, sia con preparati estemporanei, sia con colture frazionate, ha osservato stafilococchi, bacilli di ogni genere, le forme del Miller, alcune altre del Biondi.

Come si vede i resultati ottenuti non sono molto concordi, nè numerosi. Una delle ragioni della scarsità delle esperienze della mancanza di risultati soddisfacenti sta nella grande difficoltà che presentano tutte le ricerche batteriologiche nella cavità orale. In essa esiste un numero considerevole di batteri

parte saprofiti, parte patogeni, ciò che dipende dal fatto che la bocca offre ai batteri condizioni d'umidità, di temperatura e di nutrizione molto favorevoli al loro sviluppo. Secondo Vignal nella bocca si trovano 18 specie diverse di batteri, secondo Miller 25. Io ho cercato perciò di condurre le mie ricerche con la maggior precisione, cercando d'escludere tutte le cause d'errore.

I casi da me studiati furono otto, scelti fra quelli presentatisi alla Divisione infantile della Policlinica di Vienna. La diagnosi macroscopica di stomatite aftosa fu sempre confermata dall'Assistente della Clinica, e riconfermata dal Professore il quale si serviva di ogni caso per le sue dimostrazioni pratiche agli studenti. [1]

Voglio subito premettere che dall'esame diretto sui vetrini copri-oggetti non ottenni mai risultati importanti. Potei soltanto riscontrare, secondo i casi, qualche gruppo di cocchi piuttosto piccoli, filamenti di miceli, qualche bacillo della bocca, spirilli; non mi fu dato mai di riscontrare un microrganismo simile al displostreptococco descritto da Stoos. Perciò, malgrado le considerazioni dello Stoos, io credetti di poter ottenere risultati migliori col metodo delle colture.

Lavata la bocca al malato, strisciavo sull'afta con un'ansa di platino sterilizzata od introducevo un ago pure sterilizzato sotto gli strati superficiali, cercando d'asportare del materiale. Ciò fatto introducevo l'ansa o l'ago di platino in una provetta di brodo di carne. Io non descriverò più oltre il metodo da me seguìto che fu il solito procedimento di coltura.

I risultati ottenuti furono i seguenti:

Caso I. — Berger Leopoldina, d'anni 2. — 3° giorno di malattia.

Sul copri-oggetti. — Cocchi piccoli, alcuni più grandi, a gruppi, raramente a due. Si colorano bene col metodo di Gram.

Sulle piastre di gelatina. — Piccole colonie puntiformi bianco-giallognole, intorno a cui la gelatina si liquefà lentamente. Al microscopio appariscono con contorni netti, di colorito bruno o giallastro e contenuto granuloso.

---

(1) Sento il dovere di ringraziare pubblicamente l'egregio assistente dott. Emilio Berggrün pel suo autorevole appoggio nell'aiutare e controllare le mie ricerche.

Coltura in tubo. — Lo sviluppo ha luogo in superficie e lungo il tratto d'innesto. L' infissione fluidifica in 3 giorni la gelatina e i cocchi costituiscono nelle parti inferiori una massa gialla granulosa. Odore acido.

Sull' agar solidificato obliquamente vedesi una pellicola gialla splendente.

Sul siero di sangue. — Gli stessi caratteri che sull' agar.

Su patate. — Tenue rivestimento biancastro che diventa man mano giallo-oro.

Il brodo è rapidamente intorbidato.

Caso II. — Bauss Ermanno, di mesi 19. — 2° giorno di malattia.

Microrganismi che presentano gli stessi caratteri di quelli del caso precedente, inoltre:

Sul copri-oggetti.—Cellule ovali, grandi. Qualche raro micelio filamentoso.

Sulle piastre di gelatina. — Colonie bianco-nivee, che non fluidificano la gelatina.

Infissione in gelatina. — Da tutti i lati di gruppetti bianco-giallastri emanano verso il fondo dei germogli a guisa di raggi sottili i quali all' estremità superiore si rigonfiano a clava. Al fondo sviluppo di miceli filamentosi.

Su patate. — Rivestimento bianco, denso, a guisa di cumuletti disposti a catena l' uno accanto all' altro.

Caso III. — Bring Rodolfo, di mesi 11. — 2° giorno di malattia.

Lo stesso reperto che nel caso I.

Caso IV. — Winter Carlo, d' anni 2. — 2° giorno di malattia.

Lo stesso reperto che nei casi I e III.

Caso V. — Valesch Giovanni d' anni 1 $^1/_2$. — 3° giorno di malattia.

Lo stesso reperto che nei casi I, III e IV, soltanto manca la produzione di pigmento giallo.

Caso VI. — Deutsch Felice, di mesi 19. — 2° giorno di malattia.

Lo stesso reperto che nel caso precedente.

Caso VII. — Brukner Rodolfo, d' anni 2. — 2° giorno di malattia.

Lo stesso reperto che nei casi I, III e IV.

Caso VIII. — Engelmann Romano, di mesi 20. — 3° giorno di malattia.

Lo stesso reperto che nei casi precedenti; in parte con produzione di pigmento, in parte senza.

Riassumendo i risultati dell' esame batteriologico:

Nei casi I, III, IV, VII fu riscontrato lo stafilococco piogene aureo.

Nei casi V, VI, lo stafilococco piogene albo.

Nel caso VIII tanto lo stafilococco piogene aureo che l' albo.

Nel caso II lo stafilococco piogene aureo e un oïdium, probabilmente l'albicans.

Fatta astrazione dal reperto del fungo del mughetto nel caso II, che si spiega con l'esistenza contemporanea delle due malattie, ciò ch'è tutt'altro che raro, (¹) apparisce immediatamente la presenza costante degli stafilococchi, lo stafilococco aureo, l'albo o le due forme associate.

Come abbiamo già notato, E. Fränkel aveva ottenuto eguali risultati, ma le sue ricerche rimasero quasi isolate. Per le nostre esperienze gli stafilococchi piogeni acquistano nuova importanza nella patogenesi della stomatite aftosa. Noi sappiamo benissimo che gli stafilococchi piogeni si rinvengono in moltissimi stati patologici della mucosa orale ed anche nella bocca di persone sane. Il Black, il Netter ed altri sostennero anzi ch'essi vi si rinvengono spesso e forse costantemente, però molti altri autori non sono della stessa opinione; il Vignal, ad esempio, non potè riscontrarli che molto raramente. Comunque sia, l'averli riscontrati costantemente nelle nostre ricerche ci costringe ad attribuir loro una maggiore importanza nella genesi della malattia. Inoltre, pur ammettendo che gli stafilococchi si trovino spesso nella bocca d'individui sani, essi potrebbero diventare patogeni soltanto allora quando esistessero tutte quelle condizioni speciali che noi abbiamo descritte come elementi predisponenti.

Non ci fu mai possibile di riscontrare streptococchi di qualsiasi specie, nè forme simili a quelle descritte da Lemaistre, Klein, ecc., nelle afte maligne, nell'afta epizootica, ecc. (²). Così non ci accadde mai nè con l'esame diretto, nè con le colture, di riscontrare un diplostreptococco con caratteri simili al diplostreptococco del Tavel nelle peritoniti, come è stato descritto dallo Stoos.

(¹) La presenza nella bocca di altri microrganismi, specie gli streptococchi e stafilococchi, insieme col fungo del mughetto fu già notata recentemente dallo Stoos. Secondo Soltmann al mughetto precederebbe una stomatite eritematosa la quale sarebbe appunto determinata dai suddetti microrganismi e che preparerebbe a sua volta il terreno favorevole allo sviluppo dello soor.

(²) Il Siegel, nella forma epidemica osservata a Britz, riscontrò nei reni colonie di bacilli non dissimili a quelli della setticemia dei conigli e che crescevano nella gelatina, senza fluidificarla, con germoglio penniforme negli strati profondi del canale d'innesto.

Ad ogni modo devo far osservare, che, come gli stafilococchi, anche gli streptococchi possono riscontrarsi nelle più svariate condizioni morbose e nella cavità orale di persone sane.

Per completare le mie ricerche ho voluto anche eseguire alcune esperienze sugli animali. A tal uopo ho inoculato ad alcuni conigli sotto la mucosa della lingua e delle labbra del materiale ottenuto direttamente dai tre primi ammalati di stomatite e dalle colture con esso ottenute; talora determinai precedentemente alla mucosa stessa uno stato di lieve irritazione mediante lo sfregamento, altre volte andai tanto oltré da scarificare la mucosa con una lancetta sterilizzata. Ciò malgrado non mi fu mai possibile d'ottenere una forma simile alle afte. Gli animali già dopo 2 ore erano colti da febbre (38°,5-39°), che spariva nel corso di 24 ore, ma all'esame locale non fu mai possibile di riscontrare più che una semplice infiammazione gengivale.

Io credo che la grande difficoltà di determinare la malattia negli animali dipenda da condizioni poco favorevoli allo sviluppo dei microrganismi, la reazione tanto diversa, ad esempio, della saliva del bambino e del coniglio, ecc. Concludendo, noi riteniamo col Monti che, nella bocca dei bambini, avvengano, per cattive condizioni igieniche o per malattia, processi di decomposizione i quali preparino un terreno favorevole allo sviluppo d'un agente infettivo, atto a determinare la stomatite. In seguito alle nostre ricerche dobbiamo ammettere che tale agente infettivo sia rappresentato, con ogni maggior probabilità, dagli stafilococchi piogeni, i quali appunto possono rimanere inattivi quando non trovino le suaccennate condizioni. Per tale ragione riescono forse anche infruttuose le esperienze di inoculazione negli animali.

Anatomia patologica.

Il reperto anatomo-patologico della mucosa varia secondo lo stadio della malattia. Nello sviluppo della stomatite aftosa si trovano piccoli tratti della mucosa infiammati, per lo più rotondi e separati gli uni dagli altri. Ad un esame più attento si

osserva un' iniezione livido-oscura degli strati epiteliali che circondano in guisa di alone i tratti infiammati.

Con l'ulteriore procedere della malattia l'infiammazione si propaga a tutta la mucosa, così che la mucosa delle labbra, gengive, guancie, del palato duro e molle e della lingua apparisce intensamente arrossata e tumefatta. — In un decorso ulteriore si forma un essudato solido fibrinoso che si deposita al di sotto dell'epitelio; in questa guisa si formano a poco a poco delle vere essudazioni fibrinose circoscritte grigiastre o giallopallide, in forma di isole rotonde od oblunghe dentro al tessuto della mucosa. Questi essudati hanno tali aderenze con la mucosa mediante le fibre ed una massa amorfa, che non si riesce ad asportarli nemmeno con una pinzetta. Le masse d' essudato aderiscono tenacemente al corion così che, nel distaccarne alcuni brandelli, si manifesta un' emorragia della mucosa. Il colore e la resistenza delle afte sono diversi secondo lo spessore dell' essudato. Dove l'essudato forma uno strato sottile, esso traspare a traverso l'epitelio e l'afta ha una colorazione biancolivida; dove lo strato è più grosso l'afta assume una colorazione gialla. L'esame microscopico di tali macchie d'essudato dà, oltre ad epitelio, fibrina a piccoli granuli e giovani elementi cellulari più o meno numerosi. Baginsky trovò nell' essudato numerosi microrganismi, cocchi, bacilli, lunghi filamenti di miceli e cellule di fermento: io non potei mai riscontrarvi la presenza di streptococchi o stafilococchi.

L' esame microscopico della saliva, secreta copiosamente, mostra un notevole aumento delle cellule epiteliali e numerosi leucociti; emazie si riscontrano soltanto se il distacco dell' essudato determinò un' emorragia della mucosa. Worms, D'Espine e Picot trovarono nell' essudato delle afte anche un conglomerato di cellule grasse.

Nel decorso ulteriore della malattia la mucosa impallidisce a poco a poco, la gonfiezza diminuisce e, nelle afte piccole e medie, dove lo strato fibrinoso è superficiale, avviene a poco a poco un riassorbimento dell' essudato tale che l' afta sparisce lasciando dietro a sè l' epitelio normale. Nella maggior parte dei casi l' epitelio è rammollito in seguito alla più abbondante

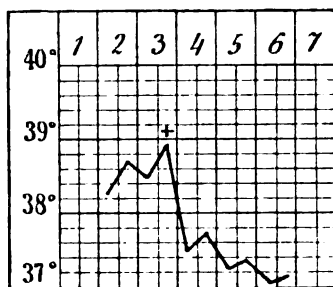
secrezione salivare, spesso anche leso per maltrattamenti esterni e sulla mucosa apparisce l'essudato in forma d'una massa gialla fortemente aderente, sporgente sul livello di essa, la quale è ricoperta da resti d'epitelio.

Più tardi questi vengono asportati in parte dalla ricca secrezione salivare, in parte dall'azione dei cibi e delle bevande. Durante questa lenta progrediente eliminazione dell'essudato le afte appariscono spesso incavate a forma di conca e verso il centro come accartocciate; i punti dove l'essudato fu già eliminato cicatrizzano presto.

In seguito al distacco dell'essudato, che avviene centripetamente, e della cicatrizzazione delle parti rimaste allo scoperto, lo strato d'essudato diviene sempre più piccolo finchè scompare del tutto. Il reintegrarsi della mucosa dopo l'eliminazione dell'essudato fibrinoso, non dà mai luogo a cicatrici, e dove prima era l'afta, resta una semplice macchia bianco-lattea d'epitelio inspessito che in qualche settimana pure scompare. Come si vede, nella stomatite aftosa non trattasi mai di formazione di vesciche, come credevano alcuni autori (Rilliet e Barthez, Escherich, ecc.). Bohn non potè mai riscontrare un accenno di liquido, e tale fatto fu confermato da Worms. Inoltre l'essudato non è follicolare, per cui è falsa la denominazione di Billard di stomatite follicolare. L'essudato può trovarsi indifferentemente in tutti gli elementi del tessuto mucoso (Bamberger). Soltanto nell'adulto l'essudazione ha luogo più frequentemente nei follicoli, ciò che spiega l'aspetto dapprima vescicoloso, poi pustoloso della lesione (Jaccoud).

Sintomi.

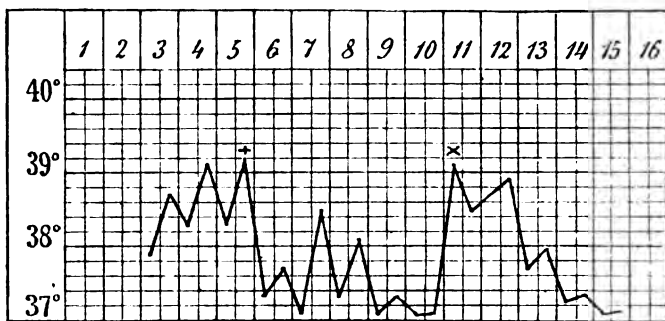
Fra i sintomi della stomatite aftosa ha grande importanza la febbre. Benchè Bohn non consideri la febbre come dovuta al processo aftoso, e molti altri autori sostengano che esso decorre frequentemente senza elevazione termica, pure io voglio cominciare la descrizione dei sintomi col parlare proprio della febbre, poichè essa si presenta con caratteri speciali e nello stesso tempo interessanti per la spiegazione del processo. La

tutti i casi, dove io stesso potei seguire lo sviluppo della malattia e nel maggior numero dei casi presentatisi con afte già bene sviluppate, io potei accertare, sia con la mia osservazione che con l'anamnesi, che la febbre precede costantemente la formazione delle afte. Di pari passo all'arrossamento e tumefazione della mucosa orale, in seguito cioè all'avvenuta infezione, si manifesta, in ogni caso, una più o meno grande elevazione della temperatura; io potei inoltre osservare che l'altezza della febbre sta sempre in rapporto con l'intensità dell'infezione. Nelle infezioni lievi la temperatura s'innalza a 38°-38°,5; nelle più gravi a 39°,5, sino a 40°,5. Anzi nelle prime 24 ore la malattia è caratterizzata da una semplice infiammazione della mucosa orale accompagnata da febbre continua. Quando dopo

Forma comune di stomatite aftosa.

+ Comparsa dell' eruzione.

1-3 giorni incomincia la formazione delle afte, cessa la febbre, così che se i malati s'osservano per la prima volta in questo stadio e l'anamnesi non abbia dati risultati positivi, si potrà facilmente supporre che la stomatite sia decorsa afebrile. Soltanto a questo modo si può trovare una spiegazione delle opinioni contrarie dei vari autori. In molti casi anche dopo la completa formazione delle afte si manifesta una leggera elevazione vespertina, così che al mattino la temperatura è a 37°, alla sera a 38°-38°,5.

Tale esacerbazione febbrile sta appunto in rapporto alla

formazione delle afte. In quei casi dove questa avviene rapidamente, in 1-2 giorni, manca la consecutiva esacerbazione vespertina. Dove invece esse si formano lentamente, in un periodo di molti giorni, l'esacerbazione vespertina della temperatura è costante e non cessa che con l'impallidire della mucosa e l'eliminazione dell'essudato. In tutti i casi dove nel decorso della stomatite non accada una nuova infezione, la quale abbia per risultato una nuova infiammazione aftosa, la malattia decorre, dal principio dell'eliminazione dell'essudato, completamente apiretica.

Stomatite aftosa con ripetizione del processo.

+ Primo apparire dell'eruzione.
× Comparsa d'un nuovo gruppo di afte.

Se invece avviene una nuova infezione, ricompare la febbre con gli stessi caratteri che al principio del male.

Soltanto in qualche caso ostinato la febbre sparisce e ricompare parecchie volte di seguito a vari intervalli, ed è sempre legata a ripetute formazioni di afte nel decorso della malattia. Durante tutto il decorso della stomatite aftosa la febbre è l'espressione dell'avvenuta infezione; ogni qualvolta nuovo materiale infettivo determina una nuova infezione della mucosa, si ripete la febbre.

I fenomeni locali alla mucosa della bocca ci offrono quadro seguente. Fino dalle prime ore dell'infezione alcun

regioni disseminate della mucosa orale presentano un colorito oscuro e sporgono per un leggero grado di tumefazione al di sopra del livello delle parti vicine.

Nello stesso tempo si manifesta l'elevazione della temperatura a 38°-38°,5 ed una secrezione salivare abbondante. In seguito all'aumentata secrezione salivare la mucosa assume un particolare aspetto lucido. In poche ore tutta intera la mucosa orale è arrossata, gonfia e diventa straordinariamente sensibile.

Il minimo contatto riesce doloroso, l'esplorazione della mucosa od anche il semplice contatto con gli alimenti non solo è doloroso, ma può determinare delle leggere emorragie; la secrezione salivare diviene sempre più e più copiosa.

Per diminuire l'addolorabilità della cavità orale i bambini sogliono tenere la bocca aperta; quando il semplice contatto col cibo determina dolore, si rifiutano di mangiare. Specialmente l'atto di succhiare, i cibi caldi o salati, ecc. producono i più vivi dolori.

Le sofferenze locali e la febbre sono la causa d'un generale malessere; i bambini diventano di cattivo umore, lunatici, piagnolosi, inquieti, specie di notte, e senza sonno. A poco a poco si va formando sul dorso della lingua un essudato grigio biancastro più o meno abbondante. Comincia allora, dopo 12-48 ore, la formazione delle afte.

Essa può avvenire rapidamente, entro 12 ore, oppure più lentamente a tratti e, alla completa formazione, possono essere necessari parecchi giorni.

Secondo il grado dell'infezione si formano solo poche afte isolate o gruppi di esse, a guisa di macchie bianche, biancogiallastre o gialle, la cui grandezza varia da quella d'uno spillo a quella d'una lenticchia e che si sollevano un po' al disopra del livello della mucosa. Queste macchie sono costituite, come abbiamo già detto trattando dell'anatomia patologica, da un essudato fibrinoso al disotto dell'epitelio e sono circondate comunemente da un alone rosso cupo.

La deposizione fibrinosa può farsi in una sol volta ed allora le afte conservano la loro estensione primitiva e sporgono appena dal livello della mucosa, o può formarsi a poco a poco

ed allora l' essudato aumenta successivamente, e le afte primitive divengono sempre maggiori dando luogo a rilevatezze più o meno grandi di colorito giallo e consistenza dura. In seguito ad un accrescimento considerevole le afte molto vicine possono confluire formando macchie gialle più grandi, rotonde, ovali od anche nastriformi.

In casi gravissimi, del resto molto rari, la produzione delle afte è assai rigogliosa e la mucosa orale è allora ricoperta dall' essudato per grandi tratti. Frequentemente una metà intera della lingua o della mucosa delle labbra è ricoperta in toto da un denso essudato di color giallo; nello stesso tempo s' osservano piccole afte in altri punti della mucosa.

Più frequentemente appariscono le prime afte alla mucosa delle labbra, margini, dorso e frenulo della lingua e, nei casi lievi, la stomatite resta limitata a queste località. Nei casi di media gravezza appariscono afte anche alla mucosa delle guancie, al palato duro e molle, alle tonsille e alla parete posteriore della faringe; in casi molto più rari le afte risiedono sulla mucosa interna delle guancie, palato molle e parete posteriore della faringe, mentre la lingua e le labbra ne sono risparmiate. La produzione delle afte può avvenire contemporaneamente su tutti i punti della mucosa o a poco a poco; dapprima alle labbra che presentansi rosse, gonfie, coperte da croste nere, poi alle gengive e alla lingua, e solo più tardi, dopo una pausa di parecchi giorni, alla mucosa delle guancie e del palato duro e molle, così che soltanto dopo molti giorni la produzione aftosa raggiunge il suo acme e quasi tutta la mucosa ne è ricoperta.

Questi sono certamente i casi più gravi.

In seguito alla formazione delle afte crescono anche i disturbi. I bambini si lagnano frequentemente pel dolore e bruciore alla cavità orale e si rifiutano di succhiare e di prendere cibo o bevanda. Essi tengono comunemente la bocca aperta e spingono fuori la lingua fra le labbra. In seguito allo scolo costante della saliva si formano talora escoriazioni di colorito bianco-grigiastro agli angoli della bocca e piccole vescichette erpetiche all' orlo del labbro inferiore.

Secondo l' intensità del processo aftoso, si ha una più o

meno grande tumefazione delle glandule sottomascellari, tumefazione che, nei casi assai gravi, può essere considerevole.

Il *decorso* della malattia è molto diverso secondo la sua intensità. Dove la formazione delle afte fu molto scarsa e limitata alle labbra, alla lingua e alla mucosa delle guance, già dopo 2–4 giorni la mucosa comincia lentamente ad impallidire, la tumefazione e la secrezione salivare diminuiscono, le singole afte si appianano, s'impiccoliscono così che, trascorsi alcuni giorni, dalla grandezza d'un pisello sono ridotte a quella d'una testa d'ago. Il riassorbimento dell'essudato avviene lentamente, dalla periferia al centro, in 2-4 giorni, lasciando dietro a sè, nei punti dianzi affetti, macchie di colorito rosso-cupo. Nello stesso modo a poco a poco diminuiscono anche i disturbi funzionali, così che tutto il decorso del male non dura più di 8 giorni.

Nei casi gravi, dove le afte sono più grandi e si presentano a gruppi, la malattia può durare 2–3 settimane.

Quando il processo ha raggiunto il suo acme diminuisce il rossore, il rivestimento epiteliale delle afte maggiori è a poco a poco eliminato, restando così allo scoperto parte dell'essudato giallo fibrinoso sottoposto alla periferia dell'afta, le masse fibrinose si sciolgono a poco a poco e le parti rimaste allo scoperto cominciano a cicatrizzare.

Quando le afte, pel distacco dell'epitelio, si aprono, i disturbi locali raggiungono il loro massimo. Per la grande addolorabilità della mucosa i bambini diventano piagnolosi e rifiutano cibo e bevanda.

Quando comincia l'eliminazione dell'essudato e la cicatrizzazione, anche l'infiammazione scema rapidamente e i bambini divengono più tranquilli e incominciano anche a mangiare.

Secondo il numero delle afte e la loro grandezza, il processo di cicatrizzazione dura 8-14 giorni e può durare 3–4 settimane in quei casi dove, durante la cicatrizzazione, avvengono recidive.

È chiaro che l'eliminazione del denso ed esteso essudato non può farsi che lentamente e può richiedere parecchie setti-

mane; la forma più grave delle afte, che prima abbiamo descritta, determina per la lunga durata dei disturbi funzionali, un dimagramento considerevole, per la qualcosa fu da alcuni autori indicata come forma maligna. Nel maggior numero dei casi le afte procedono alla guarigione. L'esito in gangrena, come fu osservato da Bouchut e Billard, io non l'ho mai riscontrato. Il ripetersi di tutto il processo costituisce nei bambini un' assoluta rarità.

In due casi con formazione aftosa assai rigogliosa al palato molle e alla parete posteriore della faringe, ebbi occasione d'osservare sintomi gravi di laringostenosi, come tosse abbaiante, afonia, respirazione crupale; dall'esame risultò, in ambi i casi, una forte gonfiezza edematosa dell' epiglottide e dell' adito alla laringe. Tutte due le volte dopo 48 ore i sintomi laringostenotici cominciarono a diminuire avviandosi il processo alla guarigione.

Benchè da una parte il decorso tipico, il carattere della febbre, la partecipazione delle ghiandole vicine, la contagiosità, ecc., dall' altra i resultati delle ricerche sull' etiologia e patogenesi abbiano posto fuor di dubbio che la stomatite aftosa è una malattia infettiva, io non ho potuto mai osservare fenomeni generali gravi. Così non mi accadde mai di riscontrare l'albuminuria, il tumore di milza, ecc., notati da qualche autore (Seitz, Stoos).

Diagnosi.

Qualora si tenga per fermo che nella stomatite aftosa non si hanno davanti agli occhi delle vescichette, e che l' essenza del processo consiste unicamente in una deposizione d'essudato fibrinoso in forma di macchie nei vari punti della mucosa, non sarà facile lo scambio di essa con un'altra malattia della bocca. Così si dovranno escludere immediatamente la stomatite varicellosa, l' erpete della bocca, il pemfigo, anche senza tener cont degli altri sintomi caratteristici di ognuna di queste form morbose.

Sarà più facile invece lo scambio con lo stomacace. Benchè come abbiamo veduto i due processi decorrano sovente insieme, tuttavia, nella maggior parte dei casi, sarà facile una diagnosi differenziale, qualora si ricordi che le afte rappresentano un'infiammazione circoscritta degli strati più superficiali della mucosa orale con deposizione d'un essudato fibrinoso, mentre lo stomacace è un'infiammazione diffusa parenchimatosa con consecutiva necrosi ulcerosa. La stomatite aftosa non dà mai luogo ad ulcerazioni, mentre nello stomacace la necrosi e la perdita di sostanza caratterizzano la malattia. La stomatite aftosa è dolorosissima, la ulcerosa dà soltanto una sensazione di gonfiore e di pulsazione della parte affetta, ecc. La stomatite aftosa si può inoltre confondere col mughetto quando esso assuma una forma disseminata, con le afte di Bednar, ecc.; ma nel mughetto l'ulteriore decorso e la diagnosi microscopica, nelle afte di Bednar, la loro sede e l'età dei pazienti eviteranno l'errore.

Quasi impossibile sarà lo scambio con la stomatite sifilitica, mercuriale, con la malattia del Klimentowsky, ecc. Nei casi ostinati non bisogna dimenticare che afte simili possono essere di natura tubercolare.

Prognosi.

Dalla descrizione dei sintomi e del decorso risulta chiaramente che la stomatite aftosa, come osservasi nei bambini, è per lo più malattia benigna. La durata e gli esiti dipendono dalla estensione ed intensità del processo; per solito avviene la guarigione in un periodo di otto giorni. Solo dove la formazione delle afte è rigogliosa ed avviene a riprese può durare parecchie settimane, dando luogo a disturbi abbastanza gravi e lascia dietro a sè un dimagramento considerevole come dopo una seria malattia. Che in quei casi in cui la formazione aftosa nella retrobocca è molto intensa, possa, in seguito ad edema della glottide, determinarsi un pericolo per la vita noi non lo possiamo negare, benchè un tale esito spetti in ogni modo alle

più grandi rarità. Nelle forme di afte confluenti, epidemiche, ecc. il pronostico sarebbe talvolta gravissimo.

Cura.

Profilassi. — Essendo la stomatite aftosa una malattia contagiosa, sarà di somma importanza l'isolamento dei bambini affetti di stomatite. Qualora ciò non sia possibile, dovranno osservarsi le maggiori cautele per evitare ogni contatto sia diretto che indiretto fra i sani e i malati. Così si dovrà impedire che i bambini giuochino insieme, si tocchino, si bacino; dovrà evitarsi l'uso degli stessi bicchieri, posate, pezzuole, ecc. Sarà inoltre prudente di conoscere la provenienza del latte, burro, ecc., da somministrarsi al bambino e si dovranno respingere senza eccezione qualora provenissero da animali infetti. Ogni sorta di latte, anche se d'animali sani, dovrà essere bollito o meglio ancora sterilizzato.

Lo stato generale del bambino esige la massima attenzione. Ogni eventuale malattia sì locale che generale (bronchite, gastroenterite, eczema, rachitide, ecc.), dovrà esser curata prontamente, essendosi fatta l'osservazione che, proprio in questi casi, s'osserva il numero maggiore di stomatiti. Sarà di capitale importanza l'igiene della bocca, essendo fuori di dubbio che la trascuranza di essa favorisce lo sviluppo di ogni sorta di microrganismi, la decomposizione dei resti di cibo, ecc. Si dovrà porre la massima diligenza all'igiene della bocca, specialmente durante il 2° anno di vita e durante tutto il periodo della dentizione, quando i bambini non possono ancora masticare bene e avvengono incompletamente la formazione e il trasporto del bolo, così che resti di cibo si fermano facilmente nella bocca. La stessa cosa vale durante le malattie febbrili dove le decomposizioni avvengono facilmente in causa dell'aumentata temperatura. In tali casi sarà, per solito, sufficiente un lavacro della bocca con acqua mescolata a qualche goccia d'alcool.

Gli alcalini sono utilissimi, per es., l'acqua di Vichy, oppure:

Bicarbonato di soda	3
Borato di soda	2
Acqua distillata	100

Si possono anche adoperare sostanze antimicotiche, acido salicilico, benzoico, borico, ecc.

Nella profilassi della stomatite aftosa si dovrà inoltre evitare l'uso di cibi facilmente decomponibili, di certi medicamenti e di tutto quanto fosse atto a determinare uno stato irritativo delle gengive (cibi acri, salati, troppo caldi, ecc.)

Nei bambini sottoposti all' allattamento artificiale si dovrà porre la più grande attenzione nella scelta del poppatoio, preferendo quello che meglio si presti ad una completa disinfezione.

È naturale che ogni malattia della bocca (carie dei denti, stomacace, ecc.) dovrà essere curata prontamente.

La *terapia* della stomatite aftosa deve essere locale e generale; in quanto alla cura locale hanno la massima importanza i lavacri, le irrigazioni, ecc. con sostanze disinfettanti. A tale scopo furono proposte le seguenti soluzioni con cui devesi toccare 4-5 volte i punti affetti, servendosi di un pennello:

Borato di soda	4
Tintura di mirra	8
Sciroppo di more	60

Borace	4
Tintura benzoe	2
Acqua distillata	10
Sciroppo di miele	20

Fosfato di soda	10
Acqua di rose	25
Miele rosato	50

Cloruro di calcio	2
Miele	20

Clorato potassico	3
Acqua distillata	60

Il Baginsky attribuisce al permanganato potassico una azione specifica. Egli adopera una soluzione al 0,1 : 15 con la quale tocca ogni punto aftoso.

Hirtz ottenne ottimi risultati dall'acido salicilico e salicilati.

Ac. salicilico	2
Alcool a 60°	10
Glicerina	20

Salicilato sodico	20
Acqua distillata	100

Furono inoltre raccomandati: l'allume, l'acqua di calce, l'acido cloridrico diluito, l'aceto concentrato (Rilliet e Barthez), soluzioni di timolo, fenolo, cloralio al 1 %, nei bambini più grandicelli il sublimato all'1-4000; il solfato di zinco all'1-20, il solfato di rame all'1-40, il cloruro di zinco all'1-10, la soluzione jodo-jodurata, la tintura di jodio, l'jodoformio, l'acido cromico, l'etere (Worms), il nitrato d'argento in soluzione e in sostanza. Ultimamente è stato adoperato con successo il feniluretano o euforina.

Euforina	5
Alcool	30

Toccare le afte col pennello 3 volte al dì.

Come si vede, nella cura della stomatite aftosa si può ricorrere a mezzi svariatissimi e ciascuno di essi raggiunge spesso lo scopo. Non bisogna anzi dimenticare che molte volte la malattia guarisce senza trattamento alcuno dopo un decorso che può variare da pochi giorni a qualche settimana. Esistono al contrario casi dove, malgrado una cura appropriata, fino dai primi giorni il processo acquista in estensione ed intensità, assumendo un carattere piuttosto grave.

In seguito all'osservazione di un numero considerevole di stomatiti aftose, io sono in grado di affermare che nessun altra sostanza ha, come il clorato potassico, un'azione così benef sul decorso del male. Malgrado che qualche singolo autore stenga il contrario e il Baginsky consideri il clorato potassi per lo meno una superfluità, io lo credo superiore a tutti

altri rimedi, così da considerarlo come quasi un rimedio specifico.

Il clorato di potassa deve esser anche somministrato per via interna, ottenendosi dall'associazione dei due modi di somministrazione i più rapidi risultati. Io sono solito di prescrivere le formule del Monti.

Clorato potassico	4
Acqua distillata	200
Tint. Mirra	8

S. Per irrigaz. della bocca.

Clorato potassico	1
Acqua distillata	90
Sciroppo di lampone	10

S. ogni 2 ore un cucchiaino raffreddato nel ghiaccio.

Soltanto nei casi ostinati e nei forti dolori, specie della lingua, si potrà ricorrere alla soluzione salicilica del Hirtz o al sublimato corrosivo.

Sublimato corrosivo	0.1
Acqua distillata	50

S. Per pennellazioni.

Se, ciò malgrado, le afte non guarissero o assumessero una forma ulcerativa, si potranno fare cauterizzazioni superficialissime colla pietra di nitrato d'argento mitigata o di solfato di rame. Se il bruciore fosse molto penoso o i bambini più grandicelli accusassero dolori intensi, si potrà ricorrere a qualche pennellazione di laudano, d'estratto d'oppio in soluzione, di cocaina, ecc., o si potrà anche usare l'infuso di coca fenica all'1 °/₀ per collutorio.

Il trattamento generale dei bambini affetti di stomatite aftosa merita la massima considerazione, specialmente il regime a cui i bambini devono essere sottoposti. L'alimentazione dei bambini affetti di afte dovrà essere completamente liquida ed ogni alimento dovrà essere somministrato freddo. Inoltre si dovranno sostenere le forze dell'infermo con una dieta sostanziosa e ciò specie in quei casi di afte recidivanti legate quasi

sempre ad uno stato irritativo della mucosa gastrointestinale. (Jaccoud.)

La somministrazione di qualche lassativo se c' è stitichezza, del salicilato sodico, bevande fresche, ecc., contro la febbre completeranno la cura.

Contro il deperimento consecutivo o nelle forme croniche recidivanti si dovrà prescrivere una dieta conveniente, l' aria di campagna, il ferro, ecc.

BIBLIOGRAFIA

1. BAGINSKY. A. Lehrbuch der Kinderkrankheiten, 1892.
2. BEDNAR, Die Krankheiten der Neugebornen und Säuglinge.—Wien, 1850.
3. BILLARD, Traité des maladies des enfants. — Paris, 1828.
4. BIONDI, Path. Mikroorgan. des Speichels. (Zeitschrf. f. Hyg., 1887.)
5. BOHN, Mundkrankheiten in Gerhardt's Handbuch der Kinderkrankheiten, 1880.
6. CAVAZZANI, Di una particolare epidemia di afte che dominò in Pieve di Cadore nel 1870. (Rivista clin. di Bologna, 1872.)
7. DALL' ACQUA, Della stomatite ulcerosa. (La Pediatria, 1896, n. 3.)
8. DAVID, Microbes de la bouche, 1890.
9. DEMME, 17 und 18 Jahresbericht des Jennerspitals.
10. FORCHHEIMER, Etiology of stomatitis aphthosa. (Archives of pediatrics, 1892.)
11. FRÄNKEL, E. Virchow's Archiv, Bd. CXIII, 3. Ueber Stomatitis aphthosa.
12. FRÜHWALD, Ueber stomatitis ulcerosa. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. XXIX, 1889.
13. GUERSANT et BLACHE, Dict. en 30 vol., art. « Stomatite ».
14. HENOCH, Vorlesungen über Kinderkrankheiten, 1895.
15. JACCOUD, Traité de Pathologie interne. — Paris.
16. JÖRG, Handb. d. Kinderkrankheiten. — Leipzig, 1826.
17. KASSOWITZ, Vorlesungen über Kinderkrankheiten im Alter der Zahnung, 1892.
18. KLEIN, Die Aetiol. der Maul und Klauensenche. (Centrbl. f. med. Wiss. 1886, 3.)
19. KNYRIM, Jahrb. f. Kinderheilk., 1885, Bd. XXIII.
20. MILLER, Die Mikroorganismen der Mundhöhle, 1892.

21. MONTI, Zur Aetiologie und Pathogenese der Stomatitis aphthosa. (Paediatrische Arbeiten, Berlin, 1890.)
22. NERLIAC, Stomatite aphtheuse. (Gaz. hôpit., 1866.)
23. PODBIELSKY, Untersuchungen der Mikroben d. Mundhöhle von Erwachsenen und Kindern, etc. (Ref. Ctbl. f. Bakt., IX, 617, 1890.)
24. RILLIET et BARTHEZ, Traité des maladies des enfants. — Paris, 1853.
25. RUAULT, Maladies de la cavité buccale. (Traité de Charcot, Bouchard, etc. Tome III.)
26. SIEGEL, Die Mundseuche des Menschen. (Deutsche medic. Wochschr., 1891.)
27. STOOS, Zur Aetiologie der Stomatitis aphthosa. (Mittheilungen aus Kliniken und medic. Instituten der Schweiz., III R., 1° Heft, 1895.)
28. VIGNAL, Recherches sur les microorganismes de la bouche. (Arch. de Phys., 1886.)
29. VOGEL-BIEDERT, Lehrbuch d. Kinderkrankh., 11 Aufl., 1894.
30. WEST, Lezioni sulle malattie dell'infanzia. Traduz. del dott. Blasi.
31. WORMS, Gaz. hebdom., 1864 e Art. Aphthes. Dic. encyclop. des Sc. méd.

Clinica Pediatrica Medica di Firenze, diretta dal prof. **Giuseppe Mya.**

LA LEUCOCITOSI NELLA INFEZIONE DIFTERICA

CON SPECIALE RIGUARDO ALLA SIEROTERAPIA.

RICERCHE

DEL

DOTT. ALFREDO FILÈ.

I.

La fagocitosi ha richiamato l' attenzione di molti studiosi sopra l'importanza dei leucociti nelle malattie infettive. In breve tempo si moltiplicarono i lavori su questo argomento; ma l'universale interesse che adesso si concentra sulla sieroterapia nella difterite ha servito ancora più ad allargare il campo della conoscenza della leucocitosi in questa malattia. Nel conferire l'immunità la leucocitosi non è certo uno degli agenti di minor importanza, ed uno studio più accurato della leucocitosi nella infezione difterica potrebbe dare valido aiuto nel seguire il decorso clinico della malattia. Oggi poi che possediamo il nuovo siero terapeutico è ancora più desiderabile una conoscenza completa della leucocitosi nella difterite, colla speranza di schiarire parzialmente il modo d'azione della così detta antitossina e la produzione della immunità in generale.

Per queste ragioni aderii volentieri al consiglio del prof. Mya di eseguire delle ricerche relative a questo argomento, giovandomi del ricco materiale clinico che si trova nella Cl' nica da lui diretta.

I lavori sulla leucocitosi nella difterite non sono molto nu merosi, e tre soli sono quelli che la trattano riguardo alla ir

fluenza della sieroterapia. Il primo autore che si trova scorrendo la letteratura è *Bouchut* (1) che nel 1868 osservò una leucocitosi acuta nella difterite. Nel 1867 egli stesso ripetè gli esami di sangue insieme a *Dubrisay* (2) e notò ancora una marcata leucocitosi in 93 difterici. In seguito ad obiezioni per parte di *Cuffer* (3) il *Bouchut* riportò nuovi casi in cui il sangue era esaminato dì per dì, e concluse che quando la difterite rimane piuttosto un processo locale, non è accompagnata da leucocitosi e finisce favorevolmente. Quando invece prevalgono i fatti della intossicazione generale allora si ha notevole leucocitosi e la prognosi in tali casi è addirittura pessima.

Pee (4) come anche sostiene *Rieder* (5) crede che la leucocitosi difterica sia meno pronunziata che nella ordinaria amigdalite follicolare. Quest'ultimo crede che sebbene di grande utilità sarebbe il fatto notato da *Bouchut*, pure occorrono nuove osservazioni per potere veramente assodare che la leucocitosi difterica cresca colla gravità della malattia, e che l'esame del sangue possa dare buoni risultati per la prognosi.

In principio dell'anno decorso *Morse* (6) pubblicò 30 casi di esame di sangue in difterici, ed anch'egli al pari di Bouchut trovò che la leucocitosi si accresce col grado della intossicazione difterica. Di più egli trovò che la leucocitosi corrisponde di solito, ma non sempre, colla estensione della membrana e scema colla sua scomparsa o poco dopo. Dallo studio morfologico dei leucociti trovò che l'aumento è per lo più dovuto all'eccesso di cellule polinucleate neutrofile, ma in parecchi casi tutte le varietà erano presenti nelle proporzioni normali.

Uno studio assai accurato veniva fatto poco dopo la pubblicazione della scoperta di *Behring* dal *Gabritchewscky* (7). Egli studiò la leucocitosi nei bambini difterici dell'Ospedale e nei conigli in laboratorio, analizzando il sangue di 10 bambini curati colla antidifterina Roux e di 4 bambini non sottoposti a questa cura, e venne alle seguenti conclusioni: La leucocitosi progressiva nella difterite autorizza a un cattivo prognostico e l'analisi del sangue può fornire delle indicazioni utili sopra il valore del trattamento. Negli 11 casi che ebbero un esito in guarigione ed in uno che morì, si ebbe una progressiva dimi-

nuzione della leucocitosi in seguito alla iniezione di siero antidifterico. In 2 casi con esito letale la leucocitosi aumentò anche dopo l'uso dell'antitossina. La proprietà necrotizzante del virus difterogeno impedisce l'attività fagocitaria. Il siero terapeutico rende le cellule dell'organismo meno sensibili alla azione necrotizzante della tossina difterogena.

Dopo questo di *Gabritchewsky* comparve un lavoro di *J. Ewing* (8) americano. Questi oltre alle variazioni quantitative si occupò anche della morfologia dei leucociti e della loro colorabilità in special modo, e venne a conclusiòni assai interessanti. Nei casi favorevoli la primitiva iperleucocitosi scema gradatamente fino a ritornare normale alla guarigione. Nei casi sfavorevoli la leucocitosi continua fino alla morte. Nei casi associati a pneumonite è maggiore il grado della leucocitosi. La leucocitosi intravascolare non ha importanza per la prognosi. Riguardo al modo di colorarsi osservò che le modificazioni di colorazione dei leucociti sono quasi sempre foriere di modificazioni o alterazioni dei sintomi che formano il quadro clinico della malattia. L'iniezione di antitossina, dopo 30 minuti determina ipoleucocitosi che è conseguenza della distruzione dei leucociti uninucleari, mentre crescono i polinucleati. Nei casi gravi e poco favorevoli, dopo poche ore dalla iniezione, si fa iperleucocitosi ed elevazione termica maggiore di quanto si aveva prima delle iniezioni. Le cellule polinucleate nei casi favorevoli presentano grande affinità per il violetto di genziana; la mancanza di questa affinità è un fatto assai grave.

L'ultimo lavoro su questo argomento è quello di *Schlesinger* (9) che esaminò 24 difterici. Egli pure affermò essere l'iperleucocitosi altrettanto più forte quanto più grave era il decorso della malattia. Essa diminuisce nei casi che terminano per guarigione. L'iniezione di siero è seguita da un breve periodo di leucocitosi che cede subito alla iperleucocitosi che si manifesta dopo breve tempo.

Questo è quanto si trova nella letteratura per ciò che riguarda strettamente la leucocitosi nella infezione difterica.

II.

Variazioni quantitative dei leucociti.

Io ho fatto i miei studi sopra 46 bambini, di cui 30 difterici (diagnosticati batteriologicamente), e 16 non difterici, ma pur trattati preventivamente colla antitossina difterica Mi sembrò utile di dividere le angine dai croup difterici, perchè, come dirò, la leucocitosi è sempre più spiccata nei casi di croup che nelle angine. In quasi tutti io ho fatto l' esame del sangue fino al giorno della loro uscita dalla Clinica, cosicchè oltre che nella fase acuta della malattia, io ho seguìto l' andamento della leucocitosi nella convalescenza e ciò è di sommo interesse. Per la numerazione mi sono servito dell' apparecchio di Thoma-Zeiss e per la colorazione dell' eosina ed ematossilina, previa fissazione nel liquido del Nikiforoff (alcool assoluto ed etere in parti uguali). Ho diviso i leucociti, in mononucleati — a nucleo polimorfo — cellule midollari e cellule eosinofile. I loro rapporti, non che le ore dell' esame, il reperto batteriologico, l' andamento della malattia, ecc. si troveranno nelle tavole in fondo al lavoro.

Oltre alle variazioni quantitative nel numero dei leucociti, io ho avuto di mira un altro punto speciale della leucocitosi, cioè le variazioni qualitative dei leucociti, il che porta a varie utili conclusioni, non bastando la sola ricerca numerica a darci un concetto esatto della attività degli elementi bianchi in circolo.

Allorquando per opera di *Werigo* (10), *Rieder* (5), *Demoor* (11), *Schultz* (12), fu introdotta in patologia la teoria della chemiotassi, caddero tutte le precedenti teorie che spiegavano la genesi della leucocitosi nelle malattie infettive. Alla stessa chemiotassi si attribuì la ipoleucocitosi che si osserva come fatto iniziale in tutte le infezioni. Essi la spiegano per il fatto che i leucociti sono attirati attivamente al posto della inoculazione od al punto dell' organismo, in cui si è accumulata la sostanza

attiva, il che porta ad impoverimento di leucociti nel sangue, il quale in un secondo periodo si arricchirebbe di nuovi leucociti per l'ipergenesi di questi elementi bianchi in seno al tessuto linfogene. Ma questa leucolisi o per dir meglio questa ipoleucocitosi io non ho potuto constatarla nella infezione difterica. Forse i miei malati saranno stati in un periodo in cui essa aveva già ceduto il posto alla successiva iperleucocitosi. Nei casi più recenti, prima della iniezione del siero io non ho mai constatato ipoleucocitosi. E poi, se questo non basta, vi sono le esperienze fatte dal prof. *Mya* (13) sulle cavie, cui inoculava colture pure di bacillo difterogeno. Egli dimostrò che la leucocitosi si inizia immediatamente dopo la iniezione e che non vi ha mai un periodo apprezzabile di riduzione dei leucociti.

Queste osservazioni sono in perfettissimo accordo con quanto ultimamente ha trovato *Stienon* (14) studiando la leucocitosi nelle varie malattie infettive. Le osservazioni cliniche di questo autore hanno mostrato che nelle infezioni umane il numero dei leucociti è generalmente accresciuto, ma che l'ipoleucocitosi al principio della malattia è un fatto rarissimo, quasi eccezionale, e che ciò concorda pienamente cogli esperimenti sopra animali quando invece di iniettare la sostanza attiva per le vene, si abbia cura di farla penetrare lentamente in circolo per via di assorbimento.

Dunque nella infezione difterica non si ha nel primo periodo la leucolisi di *Löwit* (15), la cui teoria è quasi totalmente abbandonata anche per le altre malattie infettive, dopo che le ricerche di *Popoff* (16), *Goldscheider* (17) e *Jacob* (18) l'hanno mostrata erronea, non provocando la presenza di sostanze estranee nel sangue, dissoluzione alcuna di leucociti, come voleva Löwit. Imperocchè le stesse sostanze eterogenee, peptone all'1 $^{o}/_{0}$, tubercolina, colture viventi e filtrate non dissolvono i leucociti nè in vitro, nè sotto al microscopio.

Ma se nell'infezione difterica non si può constatare la diminuzione dei leucociti nel primo periodo, è però di facile rilievo il loro aumento quando l'infezione è ben manifesta con tutta la sua sindrome. In quasi tutti i miei casi io trovai leu-

cocitosi fin dal primo giorno della ammissione in Clinica. Questa leucocitosi costantemente era più forte quanto più gravi erano le condizioni dei bambini. Ciò è in perfetto accordo con tutti gli autori che mi hanno preceduto nello studio di questo argomento.

Nelle angine difteriche, senza eccezione, ho trovato che il grado della leucocitosi era sempre inferiore a quello che si aveva pei croup difterici. Difatti mentre in questi ultimi il numero dei leucociti al momento della ammissione in clinica fu sempre superiore ai 12,000 per millimetro cubico e in un caso (Barbetti Luigi) raggiunse i 27,000, nelle angine difteriche il numero fu sempre intorno ai 9000 ed anche meno.

Come gli animali, così i bambini non hanno tutti pel bacillo difterogeno la medesima suscettibilità. *Metchnikoff* (19), *Pfeiffer e Wassermann* (20), *Isaeff* (21), *Sanarelli* (22), *Cantacuzene* (23), videro che oltre alla virulenza della infezione la leucocitosi è sotto la dipendenza della maggiore o minore suscettibilità dell'animale ad una data infezione. Ora se nelle mie ricerche io ho costantemente ritrovato nei croup difterici più alta leucocitosi che nelle angine, ciò ha una prima ragione nel fatto che nella forma laringo-tracheale v'è maggiore diffusione del processo, il che ci indica una maggiore suscettibilità del soggetto e quindi un numero più grande di apparecchi linfatici compromesso. La seconda ragione dipende dalla diversa costituzione della pseudomembrana, la quale è molto più compatta nella localizzazione laringo-tracheale così da richiedere un concorso maggiore di leucociti e quindi una maggior richiesta di essi ai varii centri leucocitogeni.

Difatti i casi gravi, specie nelle forme discendenti, in cui l'essudato arrivava talora fino ai medii bronchi, erano contrassegnati — come risulta dalle tavole — da altissime leucocitosi: 32,000.

Un altro fatto interessante, in rapporto con quanto ho detto finora, si è l'osservazione che il grado della leucocitosi era quasi sempre in relazione colla estensione della membrana. Ciò probabilmente è dovuto e all'infezione più grave ed anche al fatto che in una membrana estesa è grandissimo il numero dei leu-

cociti impigliati nelle maglie della fibrina; e per questo maggior consumo di leucociti vi devė essere una assai grande richiesta di essi da parte degli organi linfogeni. I casi di croup più gravi, in cui al momento della operazione uscì dalla ferita tracheale una lunghissima pseudo-membrana oppure numerosissimi pezzetti, mi hanno offerto i gradi più alti di leucocitosi nella mia serie di casi. Per contrario le angine difteriche a scarsissimo essudato furono sempre distinte da assai bassa leucocitosi.

Sono ancora troppo incerte le nostre cognizioni sulla ricettività di un organismo a una data infezione e quelle sulla immunità naturale ed acquisita, per poterci spiegare la diversa localizzazione del virus difterogeno ora nella faringe ed ora in laringe e trachea. Queste diverse localizzazioni saranno forse sottoposte a leggi speciali, ma io credo che il grado di virulenza del bacillo e la suscettibilità più o meno grande dell'organismo per questa infezione non siano di poco momento nel determinarle.

Riguardo alla influenza della temperatura sull'altezza della leucocitosi non posso essere del parere di parecchi autori. In ciò mi accordo pienamente collo *Schlesinger* (9), che nel suo recentissimo lavoro ha pure trovato non esistere alcun rapporto tra febbre e leucocitosi.

Anche l'età del bambino non ha influenza alcuna sul numero dei leucociti. Piuttosto essa influisce sulla gravezza e sopra l'esito della malattia, che ha un decorso assai maligno nella tenerissima età.

Per ciascun bambino che entra nella Clinica pediatrica di Firenze si fanno subito le colture dall'essudato faringeo, oppure dal laringeo, quando si è costretti a praticar subito la tracheotomia. Così io ho anche potuto studiare se la leucocitosi fosse influenzata dalle associazioni microbiche col bacillo difterogeno oppure no. Più comunemente questo era associato allo streptococco ed allo stafilococco. In questi casi non si notò alcuna influenza ben chiara da potersi riferire all'infezione mista. Varii di questi casi ebbero un decorso assai grave e morirono, e si sa per le esperienze di *Roux* e *Yersin* e per quelle di *Mya* (13)

che negli animali le colture associate di streptococco e bacillo difterogeno posseggono una virulenza superiore a quella del solo bacillo di *Löffler*, quantunque, come vuole il *Mya* (24), non possa sempre dirsi lo stesso al riguardo dell'organismo umano, perchè soventi volte non si tratta di un'associazione patogena primitiva, ma solo di una complicanza, di una successione morbosa.

Interessanti sono i casi in cui la difterite era accompagnata da bronco-polmonite. Qui ho constatato che il numero dei leucociti è maggiore in generale, di quando non si ha questa complicazione. È da rilevare il fatto che nei casi che furono seguìti da guarigione, la leucocitosi non raggiunse mai cifre altissime, e costantemente fu inferiore a quei casi che ebbero esito letale. Di più in questi dall'esame della leucocitosi io potevo quasi segnare il tempo in cui s'iniziava la broncopolmonite, perchè, poco prima ancora che la temperatura si elevasse, io già notavo un insolito aumento nel numero dei leucociti, aumento piuttosto notevole e che diveniva sempre più forte. Nei casi invece che erano seguìti da guarigione non era evidente il distacco nel rapporto dei leucociti fra un giorno e l'altro, perchè la leucocitosi si manteneva di media intensità, senza sbalzi, ma solo con piccole oscillazioni. I casi con esito letale avevano, poco prima della morte, una leucocitosi assai alta.

Le complicazioni renali più o meno gravi non mi hanno mostrato avessero influenza sul numero dei leucociti e neppure sulla loro forma.

III.

Variazioni qualitative dei leucociti.

Ho già detto che oltre alle variazioni quantitative io ho creduto bene studiare anche le variazioni qualitative dei leucociti, seguendo in questo le norme che ha dettato *Bieganský* (25) nel suo lavoro sopra la leucocitosi nella polmonite.

E ammesso comunemente che l'evoluzione della cellula leucocitaria comincia dal piccolo linfocito e termina nel leucocita a nucleo polimorfo, passando per una serie di forme intermedie, in cui il nucleo assume parvenze diverse. Non sembrandomi gran che utile il sottilizzare in queste divisioni, io ho diviso, come il *Biegansky* (25), i leucociti in *polinucleati*, *mononucleati*, *cellule midollari*, *cellule eosinofile*. Nel sangue normale dell'uomo queste diverse classi, specialmente le forme giovani (piccoli linfociti), si riscontrano in un rapporto assai ben stabilito colle forme di involuzione (leucociti a nucleo polimorfo). Ora, questo rapporto si mantiene anche nella leucocitosi oppure è alterato, e, se sì, in qual senso è avvenuta l'alterazione?

Le mie osservazioni hanno confermato il fatto, già conosciuto per altre malattie infettive, che anche nell'infezione difterica alle anomalie nel numero dei leucociti si aggiungono anche alterazioni morfologiche. Mi hanno inoltre mostrato che le modificazioni del rapporto che esiste normalmente fra le diverse specie di leucociti seguono un andamento notevolmente regolare; il che non è mai stato segnalato per la difterite neppure nel recentissimo lavoro di *Stienon* (14).

Per le altre malattie infettive questi studî sono stati fatti già da *Limbeck* (26), *Everard*, *Demoor* e *Massart* (27), *Botkin* (28), *Tschistowich* (29). Essi constatarono che nelle malattie infettive si hanno delle alterazioni nei rapporti fra le diverse forme di leucociti, ma hanno dato interpretazioni diverse, che non è qui il caso di discutere. In linea generale, nella difterite, io credo di poter dire che non esiste del parallelismo fra la curva del numero dei leucociti e quella dell'evoluzione delle loro forme. Il caso piu ordinario in un sangue con iperleucocitosi si è quello di riscontrare la predominanza delle forme a nucleo polimorfo, il che davvero si ha anche nell'infezione difterica. Ma, per esempio, nel caso della Baldini Zelinda ho trovato evidentissime modificazioni nel rapporto fra le diverse forme di leucociti. Qui avevamo un notevole aumento di leucociti mononucleati, senza che vi corrispondesse una tumefazione delle ghiandole linfatiche. Ciò porta a supporre che in certi casi

non si verifichi la normale trasformazione del linfocito in cellula polinucleare, mentre la linfa incessantemente porta al sangue molti linfociti. Per questo caso della Baldini, ed anche per altri, io mi spiego l'aumento dei leucociti mononucleati per il fatto che essa ebbe ben 5 iniezioni. Ora il prof. *Mya* (30) ritiene, che il siero ha un potere linfagogo per cui viene richiamata in circolo molta linfa, che, oltre diluire il sangue, come appare dalla apparente riduzione dei corpuscoli rossi, vi apporta numerosi linfociti. Queste vedute del prof. Mya furono confermate anche da *Grawitz* (31). Nella Baldini abbiamo fatto 5 iniezioni di siero antidifterico; per questo fatto si sarebbe esagerato l' afflusso della linfa e noi abbiamo avuto una linfocitosi.

In generale però quanto più grave è stata la malattia e tanto maggiore fu l' aumento dei polinucleati. Questo fatto è certamente dovuto ad una più rapida trasformazione dei linfociti, perchè in caso contrario non vi sarebbero i segni della distruzione leucocitaria. Questa rapida evoluzione del linfocita è un fattore di grande momento per la difesa dell' organismo, perchè sappiamo che solo i polinucleati sono fagociti, mentre i linfociti e le cellule eosinofile non lo sono mai.

Un' altra interessante osservazione è questa: nei casi di croup difterico ed in varii di angina grave, che ebbero esito in guarigione ma dopo lunga degenza in Clinica, ho notato che all' inizio della convalescenza andava gradatamente crescendo il numero dei leucociti mononucleati. Nel sangue di un convalescente difterico l' antitossina si è sostituita alla tossina difterica che prima vi esisteva; manca perciò il primo fattore della distruzione dei leucociti polinucleati, il che ha per conseguenza un ritardo nell' evoluzione delle forme mononucleate, che perciò si accumulano nel sangue, anche perchè la linfa affluisce maggiormente in circolo, essendo stato il sangue, come ogni altro tessuto, deteriorato dalla infezione, e quindi avendo bisogno di essere rinnovellato. Il *Morse* (6) pure avrebbe verificato questo fenomeno.

Dall' esame delle preparazioni secche ho potuto vedere che in casi assai gravi, in cui v' era alta leucocitosi, oltre ad una

grande frammentazione dei nuclei degli elementi polinucleati, molti di essi rimanevano più scolorati degli altri, ad indicare le loro sofferenze od anche la loro morte. Dunque in un' infezione il numero dei leucociti può bensì essere assai cresciuto, ma non tutti possono essere atti alla fagocitosi. I casi, in cui ho notato questi fatti, erano, come ho già detto, i più gravi. In essi si aveva una grande tumefazione delle glandole linfatiche del collo, da ricordare in taluni il cosiddetto collo proconsolare. Nel caso del Gheri Armeno, in cui l' infezione aveva assunto un carattere eccezionalmente grave, v' era bensì altissima leucocitosi, ma gli elementi bianchi, pure conservati nella loro forma, debolmente si lasciavano colorare dalla ematossilina in buona parte, e parecchi anche non si coloravano affatto. Questo indicava certo la speciale gravezza dell' infezione, unitamente alla diffusa lesione del sistema linfatico, ben manifesta specialmente nella regione adiacente alla localizzazione prima dell' infezione. Con un sistema linfatico così leso era certo più difficile resistere all' infezione, e per ciò l'esito fu funesto. Sebbene assai interessante, pure io non posso dare alla maggiore o minore colorabilità del nucleo dei leucociti tutta l' importanza che vorrebbe l' *Ewing* (8), il quale conchiude che la colorabilità dei leucociti deve tenere il posto fra le manifestazioni della malattia, e che di essa si ha un segno prognostico di grandissimo valore.

Riguardo alle cellule eosinofile, durante la malattia io le ho trovate infinitamente scarse e assolutamente mancanti. Questo fu pure notato da tutti gli altri osservatori. Ciò starebbe ad indicare che almeno nella difterite la teoria di *Hankin* e *Kanthack* (32), che attribuisce l' immunità alla presenza negli umori di sostanze antitossiche, delle alexine, secrete delle cellule eosinofile, non può trovare un grande appoggio, perchè, invece di aumentare, si trovano assai ridotte nel numero.

In molti casi ho fatto l' esame dei corpuscoli rossi, ma non ho trovato grandi modificazioni sia numeriche che morfologiche. Quando ho fatto qualche preparazione secca di sangue in bambini convalescenti, ho notato parecchie emazie nucleate, ad indicare che in questo periodo si ha veramente un richiamo in

circolo di elementi nuovi, una maggiore attività ematopoietica per riparare alle lesioni che il sangue ha sùbito, come ogni altro tessuto. Tutti questi fatti erano già stati rilevati dal prof. Mya fin dal 1893, come appare da una sua comunicazione all' Accademia medico-fisica di Firenze.

IV.

Influenza dell' antitossina sopra la leucocitosi nella infezione difterica.

Le iniezioni di antitossina in quasi tutti i casi producono notevoli ed immediati effetti sopra i leucociti.

Dai 14 casi in cui ho rifatto l'esame del sangue poco dopo la iniezione di siero, mi risultò una discreta diminuzione nel numero dei leucociti, che era più marcata dopo 30 minuti dall'iniezione. Non potei bene determinare la durata di questo periodo di ipoleucocitosi, perchè non credetti dover moltiplicare troppo le punture necessarie per ottenere il sangue. La diminuzione dei leucociti si ha propriamente per tutte le forme, ma forse è più evidente per le cellule mononucleate. Quale sarà il significato di questa riduzione dei leucociti in seguito alle iniezioni di antitossina? Fu notato da *Isaeff* (33), *Cantacuzene* (34) ed altri che l' afflusso locale di leucociti dopo un' iniezione intraperitoneale di germi del colera, è molto più grande in animali trattati col siero preventivo che in quelli non trattati. Probabilmente questo fatto ci offre una spiegazione della ipoleucocitosi osservata dopo una iniezione di antitossina difterica. Se il siero, come appare dai fatti clinici, accelera il distacco della membrana ed ostacola l' assorbimento delle sostanze settiche, esso lo deve fare per mezzo di un incremento di leucociti al posto della infezione. Ma questo che accade dentro mezz' ora dopo l' iniezione del siero può solamente esser provato contando i leucociti nell' essudato o, meglio, nei tessuti infiammati, prima e dopo le iniezioni. Su questa via di ricerche si era messo il *Gabritchewshy* (7), il quale concluse che nelle cavie

e nei conigli immunizzati la reazione leucocitaria locale è assai più manifesta che in quegli animali non immuni. La pseudomembrana prima si stacca dal tessuto sottostante là ov'è più forte l'infiltrazione dei leucociti. Dunque la condizione importante per la guarigione del processo difterico locale consiste principalmente nella formazione rapida dell'infiammazione circoscritta e nel grande aumento di leucociti che producono l'istolisi.

Per conseguenza si può dire che la rapida ipoleucocitosi prodotta dall'antitossina sia dovuta ad un'azione chemiotattica positiva, che risiede nel principio immunizzante del siero.

Ripetendo gli esami di sangue a 2, 6, 12, 24 ore di distanza dalla iniezione di siero, ho notato che alla primitiva ipoleucocitosi succede l'iperleucocitosi. Questa è quasi costante in tutti i casi. Essa è assai manifesta già due ore dopo l'iniezione e raggiunge il suo massimo 5-6 ore dopo. Nei casi favorevoli, dopo questo tempo la leucocitosi comincia a decrescere e 24 ore dopo l'iniezione del siero i leucociti sono in numero minore che prima dell'iniezione. Nei casi gravi il numero dei leucociti, giunti al massimo circa 6 ore dopo, subisce degli alti e bassi, senza mai scendere notevolmente, finchè non intervenga una seconda iniezione a ridurre il loro numero alla norma. Nei casi invece sfavorevoli, pur essendo costante l'iniziale ipoleucocitosi e la successiva iperléucocitosi, si nota una grande incostanza del numero dei leucociti, che non è influenzato da successive iniezioni. La leucocitosi si mantiene sempre alta e gli ammalati muoiono in questo stato.

L'iperleucocitosi è certo dovuta ad una ipergenesi di leucociti in seno agli organi linfogeni. Ma noi non troviamo nel sangue un assoluto aumento degli elementi mononucleati. E ciò io credo perchè i leucociti giovani neoformati subiscono subito gli effetti delle tossine che si trovano in circolo ed accelerano perciò la loro evoluzione. La rapidità di questo fatto non deve meravigliare, perchè nella leucocitosi sperimentale numerosissimi autori dimostrarono che questa evoluzione può essere eccessivamente rapida. Con questa precipitosa evoluzione dei leucociti mononucleati abbiamo anche la precoce invol-

zione delle forme polinucleate. Nella leucocitosi difterica adunque, come in molte altre sperimentali, si ha un consumo straordinario di leucociti. Questo, a mio credere, è un fatto intimamente collegato alla produzione della immunità. Anche non dando eccessiva importanza ai lavori di *Loewy* (35) e *Richter* (35), i quali dimostrarono che la leucocitosi sperimentale si accompagna ad un aumento della alcalinità del sangue, attribuibile alla distruzione di un certo numero di leucociti, ed a quelli di *Horbaczewski* (36), il quale trovò la spiegazione dell'acido urico escreto in sovrabbondanza nella nucleina che i leucociti distrutti hanno abbandonato, è però un fatto che numerosi batteriologi, fra cui *Hankin* (32), *Buchner* (37), *Kitasato* e *Wassermann* (38), *Bordet* (39), *Poehl* (40), *Metschnikoff* (41), sono tutti d'accordo nell'ammettere che i leucociti racchiudano in sè una gran quantità di sostanze battericide, che lasciano sprigionare allorquando succede il loro disfacimento. Questi fatti furono in special modo studiati recentissimamente da *Trambusti* (42) nell'infezione difterica. Egli ritiene assai giustificata l'ipotesi di quelli che considerano i leucociti come organi produttori di sostanze battericide ed antitossiche. Esistono inoltre numerose esperienze a dimostrare che la mescolanza di leucociti in vitro aumenta in forti proporzioni il potere battericida degli umori e degli essudati, come hanno dimostrato i predetti osservatori.

Ora tutti questi fatti a me sembra assai interessante di metterli in parallelo coll'osservazione clinica, che mi dimostrò come nel corso dell'infezione difterica si produce nel sangue un consumo eccessivo di leucociti in seguito alla precipitazione straordinaria del loro processo d'involuzione.

La leucocitosi nelle forme non difteriche.

Gli effetti dell'iniezione di siero antidifterico sul sangue umano io li ho pure studiati in bambini non affetti da difterite, ma da varie forme di laringiti e che furono iniettati preventivamente prima che il reperto batteriologico chiarisse la natura della malattia.

In questi casi non fu evidente il primo periodo di ipoleucocitosi, che sussegue dentro mezz'ora dall'iniezione. In certi casi l'ho trovata ed in altri no; però non fu mai molto sensibile come lo era nei casi di difterite vera, tanto che credo logico l'ascrivere queste piccole variazioni agli inevitabili errori del metodo di ricerca. Fu invece assai evidente e costante in tutti i casi il secondo periodo, quello cioè della iperleucocitosi che è già ben manifesta due ore dopo l'iniezione del siero. Al pari dei casi di difterite vera essa raggiunge il massimo 6 ore dopo e quindi ridiscende alla norma in circa 24 ore. In varii casi, prima di tornare alla cifra che aveva al momento dell'iniezione, si ebbe un periodo in cui il numero dei leucociti era minore ed hanno dovuto quindi riaumentare. In altri invece non era apprezzabile quest'ultimo fatto.

Mi pare notevole l'osservazione che nei bambini non difterici, che morirono pochi giorni dopo l'iniezione, il grado di iperleucocitosi susseguente all'iniezione non era assai marcato, e che il numero dei leucociti andava mano mano diminuendo fino a raggiungere cifre bassissime poche ore prima di morire. In un caso, nel Peroni Lamberto, un'ora avanti la morte erano circa 2000. Li numerai due volte. Mi pare difficile per questi casi trovare una adatta spiegazione.

Anche in queste forme non difteriche, allorquando predominavano i fatti croupali, sì da dover ricorrere alla tracheotomia, era assai evidente il grado di leucocitosi, a differenza dei casi di angina pura, in cui o non c'era leucocitosi oppure era minima. Ciò, come si vede, cammina parallelamente a quanto ho osservato nelle forme veramente difteriche. Anzi a questo proposito dirò che nelle forme di angine, sia difteriche che no — ripeto nelle sole forme di angina — io spessissimo diagnosticavo la natura dell'angina dall'esame dei leucociti, assai prima che il reperto batteriologico lo confermasse, e ciò perchè nelle angine difteriche esiste sempre un certo grado di leucocitosi, mentre nelle forme non difteriche questa o non esiste affatto o è minima o spessissimo v'è ipoleucocitosi (vedi Tavole).

Ho avuto l'occasione di studiare gli effetti dell'iniezione

di tossina antidifterica anche su 4 bambini sani che si iniettarono a scopo preventivo. In questi l' andamento della leucocitosi seguì perfettamente quello che già il prof. *Mya* (30) espose alla Accademia medico-fisica fiorentina. Cioè il numero dei leucociti ha subìto le medesime variazioni che nei bambini affetti da angine e laringiti non differiche, aumentando poco dopo l'iniezioue e ritornando alla norma dopo circa 24 ore. In uno — Benoldi — che si iniettò due volte, si vide che anche dopo la seconda vi fu un notevole aumento di leucociti, che ritornò normale il giorno successivo alla iniezione.

Le modificazioni quantitative e qualitative dei leucociti nella prognosi della difterite.

Già precedenti osservatori hanno dimostrato che l'esame del sangue può dare pochissimo aiuto nella prognosi della difterite. Io pure convengo con essi. La leucocitosi intravascolare della difterite è l'indice della reazione dell'organismo contro i prodotti tossici circolanti nel sangue. Noi perciò da un' alta leucocitosi nella difterite potremo, com'è della polmonite, dedurre che l'infezione è grave, ma non che il corso della malattia sarà sfavorevole. Come appare dalle tavole, varii casi gravi con alta leucocitosi ebbero un esito in guarigione. Nondimeno, quando i cambiamenti del sangue sono seguìti giorno per giorno, si può osservare che il progressivo aumento della leucocitosi è ordinariamente seguìto da morte. Un piccolo aiuto si può avere anche dalle preparazioni secche, da cui si può facilmente rilevare che nei casi favorevoli la percentuale dei leucociti polinucleati è di solito alta e gradatamente crescente, mentre nei casi mortali si hanno irregolari oscillazioni. Ben poco adunque ci servirà la leucocitosi nel pronunziare una prognosi più o meno grave nel corso di un' infezione difterica.

Studiata così in tutti i suoi punti la leucocitosi nell' infezione difterica, appare chiaro alla mente che la leucocitosi considerata come una semplice modificazione in più o in meno del numero dei leucociti del sangue è un dato affatto insufficiente.

Chi non vede nella leucocitosi difterica (come forse in altre leucocitosi infettive) una anomalia profonda nella costituzione del sangue, paragonabile a quella di cui sono sede, in grado diverso, tutti i tessuti dell'organismo, sotto l'influenza delle diftero-tossine? Mentre nel periodo iniziale nei diversi tessuti del corpo si riscontrano dei disordini più o meno profondi della struttura cellulare, nel sangue i leucociti offrono in maggior parte l'aspetto che caratterizza il loro stadio d'involuzione. Come l'epitelio renale avvelenato si rigonfia, s'intorbida e poi cade in necrosi, così il leucocita intossicato palesa le sue sofferenze colla precoce evoluzione, prematura involuzione e rapida dissoluzione.

Conclusioni.

— L'infezione difterica è sempre associata a spiccata leucocitosi, che inizia poco tempo dopo l'infezione.

— Non ho potuto constatare se in principio della malattia vi sia ipoleucocitosi come vorrebbero alcuni autori.

— La leucocitosi è tanto più forte quanto più gravi sono le condizioni del paziente alla sua entrata in Clinica.

— Nei croups difterici la leucocitosi fu costantemente maggiore che nelle angine difteriche.

— Nei casi favorevoli la leucocitosi, raggiunto il massimo del suo ciclo, che corrisponde all'acme dell'infezione, ben presto comincia ad essere meno spiccata, per sparire completamente durante la convalescenza.

— Nei casi sfavorevoli la leucocitosi continua fino alla morte.

— Quasi sempre il grado di leucocitosi è in rapporto coll'estensione della membrana.

— La leucocitosi non è in rapporto nè con l'età del bambino, nè con l'elevazione della temperatura.

— Nelle forme in cui il bacillo difterico era associato ai comuni cocchi piogeni, io non ho mai notato alcuna influenza di queste associazioni sulla leucocitosi.

— Quando invece durante il corso della difterite si associa la pneumonite, la leucocitosi anch' essa diventa più spiccata.

— Nessuna influenza dalle complicazioni renali.

— Non esiste, come sembra ritengano certi autori, nella difterite del parellelismo fra la curva del numero dei leucociti e quella dell' evoluzione delle loro forme, ossia in questa infezione non vi ha coincidenza fra il numero e la forma degli elementi bianchi.

— In generale quanto più grave è la malattia e tanto più grande è l' aumento dei leucociti polinucleati.

— Durante la convalescenza delle forme a lungo decorso, si nota quasi sempre nel sangue un aumento di leucociti mononucleati ad indicare il suo rinnovellamento.

— Non tutti i leucociti che si contano in circolo sono vivi ed attivi, poichè dalle preparazioni secche appare che, sebbene conservati di forma, pure molti di essi non assumono il colore oppure lo assumono scarsamente, ad indicare la loro morte o lo stato di sofferenza.

— Nella leucocitosi dell' infezione difterica sono quasi mancanti le cellule eosinofile.

— Non ho trovato notevoli modificazioni dei corpuscoli rossi all' infuori della comparsa di eritrociti nucleati nella convalescenza di alcuni bambini.

— Le iniezioni di antitossina determinano ipoleucocitosi dopo circa mezz' ora. Alla primitiva ipoleucocitosi succede iperleucocitosi, che è al massimo 5-6 ore dopo l' iniezione e che nei casi favorevoli decresce presto, — in circa 24 ore — senza più raggiungere la cifra che aveva prima dell'iniezione. Nei casi gravi, alla iniezione dell' antitossina dopo poche ore tien dietro iperleucocitosi e poi alti e bassi senza che si scenda mai alla norma se non sopravviene un' altra iniezione di siero. Invece nei casi sfavorevoli, raggiunta l'iperleucocitosi, si ha una grande incostanza nel numero dei leucociti, che non è influenzata da successive iniezioni, e la leucocitosi si mantiene sempre alta fino alla morte.

— Nella leucocitosi difterica, come in molte altre sperimentali, si ha un gran consumo di leucociti, che non è un fatto indifferente per la produzione dell' immunità.

— Nelle forme anginose e croupali non difteriche v' è, come in queste, un maggior grado di leucocitosi nei croup che nelle angine.

— Nelle forme laringee non difteriche le iniezioni di siero producono iperleucocitosi ma non grande, senza evidente periodo di ipoleucocitosi; e nei càsi favorevoli si ha il ritorno alla norma in circa 24 ore. È notevole il fatto che nei casi favorevoli l' iperleucocitosi successiva alle iniezioni di antitossina difterica non è molto grande e che decresce gradatamente fino alla morte sì da raggiungere talora gradi minimi.

— Le angine non difteriche sono contrassegnate o da mancante leucocitosi oppure da bassa leucocitosi, ma spessissimo da ipoleucocitosi; ciò s' intende prima delle iniezioni di siero. Questo fatto le può far distinguere, assai per tempo, dalle forme vere di angina difterica.

— Nei bambini sani iniettati a scopo preventivo si ha leggiera iperleucocitosi poco dopo l' iniezione, con ritorno alla norma circa 24 ore dopo.

— Nell' infezione difterica la forte leucocitosi indica la reazione dell' organismo contro la grande virulenza dell' infezione; ma la leucocitosi non ha importanza di sorta nello stabilire la prognosi del caso.

BIBLIOGRAFIA

1. Bouchut, Gaz. des hôpitaux, 20 nov. 1879.
2. Bouchut et Dubrisay, Compt. rend., t. XXXV, n. 3, 1877.
3. Cuffer, Revue mens., 1878, pag. 519.
4. Pee, Untersuchungen ü. Leukocytose. — Berlin, 1890.
5. Rieder, Beiträge z. Kenntniss d. Leukocytose. — Leipzig, 1892.
6. Morse, Boston Med. and Surg. Jour., 7 March 1895.
7. Gabritchewscky, Annales de l'Inst. Pasteur, 1894.
8. Ewing, The New York Med. Journ., Aug. 1895.
9. Schlesinger, Die Leukocytose bei Diphterie. (Arch. f. Kinderheilkun XIX, 5-6.)
10. Werigo, Les globules blancs protecteurs du sang. (Annales Pastei 1892.)

11. Demoor, Annales de la Société Royale. — Bruxelles, 1892.
12. Schultz, Deutsch. Arch. f. Klin. Med., 1893.
13. Mya, Sperimentale, 1893, vol. XLVII, fasc. 14.
14. Stienon, De la leucocytose dans les maladies inféctieuses. (Ann. de la Société Royale. — Bruxelles, 1896.)
15. Löwit, Studien z. Physiologie und Pathologie des Blutes, 1892.
16. Popoff, Hematologische Studien. (Centralblatt f. Bakter., 1894.)
17. Goldscheider, Arch. f. Anatom. und Phys., 1894.
18. Jacob, Arch. f. Anatom. und Phys., 1894.
19. Metchnikoff, Annales Pasteur, 1891-94.
20. Pfeiffer und Wasserman, Zeit. f. Hyg., 1893.
21 Isaeff, Zeit. f. Hyg., 1894.
22. Sanarelli, Annales de l'Inst. Pasteur, 1893.
23. Cantacuzene, Recherch. sur la destruction de Vibr. col. — Paris, 1894.
24. Mya, Intorno ad alcuni fatti capitali per la diagnosi dell'infezione difterica. (La Pediatria, 1895, fasc. 1-2.)
25. Biegansky, Deut. Arch. f. Klin. Med., 1894, vol. 53, fasc. 3-4.
26. Limbeck, Grundnis ein Klin. Pat. des Blutes, etc. — Jena, 1892.
27. Everard-Demoor-Massart, Annales Pasteur, 1893.
28. Botkin, Hämatologische Untersuchungen bei Tuberkulinjniectionen. (Deutsche Med. Wochenschrift, n. 15, 1892.)
29. Tschistowich, Arch. des Sciences Biol., t. 2, n. 5, 1894.
30. Mya, Sperimentale, 1895.
31. Grawitz, Troisième Congrès de Médecine interne a Munich, 2 avril.
32. Hankin e Kanthack, Centralblatt f. Bakt., 1892. (British Med. Journ., giugno 1892.)
33. Isaeff, Untersuch. ü. Kunstliche Immunität gegen Chol. (Zeit. f. Hyg., 1893.)
34. Cantacuzene, Recherches sur la destruction de Vibr. chol.—Paris, 1894.
35. Loewy e Richter, Deutsche Med. Wochensch., 1895, n. 33.
36. Horbaczewsky, Centralblatt f. Physiologie.
37. Buchner, VIII Intern. Congress in Budapest. (Centralblatt. f. Bakter., 1894.)
38. Kitasato e Wassermann, Zeitschrift f. Hyg., XII, 1892.
39. Bordet, Annales Pasteur, 1895.
40. Poehl, Ueber Immunitäts u. Immunisationstheorien. (Deutsche Med. Woch., 5, 1895.)
41. Metchnikoff, Ueber die Immunität in Allgemeine Aetiologie von Lubarsch, 1895.
42. Trambusti, La Settimana medica dello Sperimentale, 1896, n. 4. (Comunicazione all'Accademia Medico-Fisica fiorentina.)

An

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d' Esame
1	**Petrioli Ezio,** anni 4 $^{1}/_{2}$. 3ª giornata.	Bacillo difterico e strepto-cocco.	Behring. I.	Prima dell'iniez. $^{1}/_{2}$ ora dopo 2 ore dopo 6 ore dopo 24 ore dopo 48 ore dopo Prima di partire
2	**Petrioli Ada,** anni 6. 3ª giornata.	Bacillo difterico e vari cocchi.	Behring. I.	Prima dell'iniez. 2 ore dopo 6 ore dopo 24 ore dopo 48 ore dopo 3 giorni dopo 7 giorni dopo Prima di partire
3	**Petrioli Gino,** anni 3. 2ª giornata.	Bacillo di Löffler e stafilo-cocchi.	Behring. II. Behring. I.	Prima dell'iniez. 2 ore dopo 6 ore dopo 24 ore dopo 12 ore dopo II. 48 ore dopo II. 15 Gennaio Prima di Partire

teriche.

	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell'essudato	Osservazioni Cliniche
7	5445	79		Essudato fibrinoso abbondante sulle due tonsille.	Dal 25 Dicembre 1894 al 8 Gennaio 1895. Esiste leggero ingorgo delle ghiandole sottomascellari. La temperatura massima fu di 39°.7. All'ammissione aveva tracce di albumina che scomparvero dopo l'iniezione. **Guarigione.**
8	7155	—			
7	6654	—			
0	9222	39	—		
0	8040	119			
5	5127	79			
6	3816	119			
1	4412	79		Essudato fibrinoso non abbondante soprà la tonsilla sinistra.	Dal 7 Gennaio 1895 al 17 Gennaio 1895. Ingorgo mediocre alle ghiandole submascellari. Temperatura massima 38°. Non ebbe alcuna complicazione. **Guarigione.**
5	5127	79			
5	2935	—			
0	3816	79			
1	3240	—	—		
0	1914	—			
1	2551	39			
13	2021	—			
35	6757	119	4,533,000	Essudato abbondante sulle due tonsille e parte posteriore della faringe.	7 Gennaio 1895 al 17 Gennaio 1895. Notevole tumefazione ghiandole sottomascellari. Temperatura massima 38°.9. Nessuna complicazione. **Guarigione.**
30	8794	—	—		
70	9420	—	—		
54	6178	—	—		
45	5127	79	—		
20	3120	—	—		
05	3054	—	—		
11	3531	—	4,799,000		

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d'Esame
4	**Baldini Zelinda,** mesi 14. 2ª e 3ª giornata.	Bacillo di Löffler in coltura pura.	Behring. I.	Prima dell'iniez.
			Behring. II.	½ ora dopo
			Behring. I.	2 ore dopo
			Behring. I.	6 ore dopo
			Behring. II.	24 ore dopo II.
				24 ore dopo III.
				12 ore dopo IV.
				48 ore dopo IV.
				Prima della V.
				24 ore dopo
				48 ore dopo
				27 Febbraio
				Prima di partire
5	**Manni Nello,** anni 2 ½. 8ª giornata.	Bacillo difterico con pochi cocchi.	Behring. II.	Prima dell'iniez.
				2 ore dopo
				6 ore dopo
				24 ore dopo
				48 ore dopo
				Prima di partire
6	**Lenzi Ezio,** anni 6. 4ª giornata.	Scarso bacillo di Löffler. Molti streptococchi, scarsi stafilococchi.	Behring. I.	Prima dell'iniez.
				½ ora dopo
				2 ore dopo
				6 ore dopo
				24 ore dopo
				24 Gennaio
				Prima di partire

	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell'essudato	Osservazioni Cliniche
14	6519	79	4,600,000	Abbondante essudato sopra le due tonsille o sopra l'ugola.	21 Gennaio al 4 Marzo. Note evidenti di rachitismo. Il giorno 23 Gennaio compare albumina nelle urine e questa con varie alternative dura fino al giorno 5 Febbraio. La temperatura massima 38°.8. **Guarigione.**
17	5286	—	—		
11	7791	119	—		
14	6162	79	—		
12	4730	79	—		
32	4612	—	—		
35	8985	—	4,399,000		
09	2703	—	—		
30	3708	159	—		
29	3027	198	—		
04	2424	198	—		
19	4464	857	—		
82	4611	119	5,000,000		
70	7194	79	—	Essudato fibrinoso spesso sulle due tonsille ed ugola.	31 Dicembre 1894 all'8 Gennaio 1895. Leggero ingorgo ghiandole sotto mascellari. Temperatura massima 40°.2. Soffrì di una leggerissima bronchite catarrale. **Guarigione.**
27	6654	—			
67	8586	79			
91	5598	119			
92	4962	89			
90	3889	119			
08	4054	—	—	Tonsille gonfie, ricoperte da scarso essudato biancastro, facilmente distaccabile senza sanguinare.	18 Gennaio al 27 Gennaio. Al momento dell'entrata in Clinica aveva afonia. Temperatura massima 38°.7. Fu una forma assai leggera. **Guarigione.**
84	8229	89			
51	4690	39			
90	5088	—			
11	4253	—			
106	2305	—			
26	3378	—			

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d' Esame
7	**Petrioli Adamo,** anni 12. 2ª giornata.	Bacillo difterico stafilococchi.	Behring. II. Behring. I.	Prima dell'iniez. ½ ora dopo 2 ore dopo 6 ore dopo Prima della II. 24 ore dopo II. 48 ore dopo II. Prima di partire
8	**Freddiani Raffaello,** anni 6. 2ª giornata.	Bacillo Löffler e molte impurità.	Behring. II Behring. I.	Prima dell'iniez. 2 ore dopo 24 ore dopo 48 ore dopo 24 ore dopo II. Prima di partire
9	**Barbetti Giovanni,** anni 8 ½. 2ª giornata.	Bacillo Löffler, stafilococchi.	Behring. II.	Prima dell'iniez. 6 ore dopo 18 ore dopo 48 ore dopo Prima di partire
10	**Lepri Egisto,** anni 2 ½. 5ª giornata.	Bacillo di Löffler, stafilococchi.	Siero Belfanti cc. 30.	Prima dell'iniez. ½ ora dopo 7 ore dopo 24 ore dopo 48 ore dopo Prima di partire
11	**Lepri Vittorio,** anni 8. 3ª giornata.	Bacillo di Löffler in cultura pura.	Siero Belfanti cc. 15.	Prima dell'iniez. 6 ore dopo 24 ore dopo Prima di partire

[illegible]	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell'essudato	Osservazioni Cliniche
590	4611	—	4,700,000	Essudato denso sopra le due tonsille.	22 Gennaio al 5 Febbraio. Lieve tumefazione ghiandole submascellari. Temperatura massima 39°.8. Polso intermittente al principio convalescenza. **Guarigione.**
987	3021	39			
152	7314	—			
912	7109	—			
027	5286	—			
709	3173	—			
914	1703	89			
.914	2180	—	4,683,000		
226	3378			Scarso essudato ma aderentissimo nell'ugola e tonsille.	27 Gennaio al 14 Febbraio. Discreta tumefazione ghiandole sottomascellari. Temperatura massima 39°. Leggero aumento dei diametri cardiaci. Polso raro - Toni puri. **Guarigione.**
954	5631				
874	4014				
914	8109	—	—		
1033	7314				
1795	4247				
1629	6201	39		Sottile essudato puriforme sulla tonsilla destra.	18 Febbraio al 20 Febbraio. Ebbe una forma assai leggera. Temperatura massima 37°.7. **Guarigione.**
3657	5445	79			
1636	5519	79	—		
2265	4580	89			
3675	3031	—			
1590	5763	119	4,699,000	Lieve essudato fibrinoso sulla tonsilla destra.	8 Marzo al 14 Marzo. Forma assai leggera. Temperatura massima 37°.8. **Guarigione.**
1590	4611	—			
1470	6519	198			
2516	4092	—			
2703	3935	39			
3305	3054	—	—		
636	5883	39		Essudato fibrinoso sulle due tonsille e pilastri.	8 Marzo al 17 Marzo. Forma mite. Temperatura massima 38°.3. **Guarigione.**
2782	4611	79	—		
526	5644	—			
1590	4611	—			

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d'Esame
12	**Gheri Armeno,** anni 5. 8ª giornata.	Bacillo di Löffler e cocchi.	Siero Belfanti cc. 20.	Prima dell'iniez.
				½ ora dopo
			idem cc. 25.	6 ore dopo
				24 ore dopo I.
			idem cc. 10.	2 ore dopo II.
				6 ore dopo II.
				24 ore dopo II.
				2 ore dopo III.
				48 ore dopo III.
				Prima di morire
13	**Pucci Teresina,** anni 2. 4ª giornata.	Bacillo di Löffler e cocchi.	Siero Belfanti cc. 20.	Prima dell'iniez.
				6 ore dopo
				24 ore dopo
				22 Marzo
				Prima di partire
14	**Campani Rosa,** anni 2. 4ª giornata.	Bacillo Löffler, streptococchi, stafilococchi.	3 iniezioni siero Belfanti cc. 15. ciascuna.	Prima dell'iniez.
				12 ore dopo
				2 ore dopo II.
				24 ore dopo II.
				6 ore dopo III.
				24 ore dopo III.
				Prima di partire
15	**Lupi Ugo,** anni 4 ½. 2ª giornata.	Bacillo Löffler e forse protei.	Siero Belfanti cc. 20.	Prima dell'iniez.
				½ ora dopo
				2 ore dopo
				8 ore dopo
				24 ore dopo
				Prima di morire

	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell'essudato	Osservazioni Cliniche
28	8127	79	4,833,000	Abbondante essudato biancastro sull'ugola e sulla tonsilla sinistra.	16 Marzo al 21 Marzo. Notevole ingorgo delle ghiandole sottomascellari a sinistra poi da ambo i lati (collo proconsolare). Temperatura massima 39º.2. Diametro trasversale del cuore allargato. Toni deboli. Eruzione scarlattiniforme da siero per tutto il corpo. Albumina abbondante. Cilindri. Paralisi cardiaca. **Morte.**
57	6445	79			
53	8632	79			
54	12362	—			
49	11527	98			
23	10136	39			
19.	12041	79			
34	14475	39	4,866,000		
504	5531	79		Essudato abbondante sulle tonsille e faringe.	18 Marzo al 24 Marzo. Temperatura massima 39°.7. Forma piuttosto mite. **Guarigione.**
088	7155	79			
027	5286	—	—		
305	3054	—			
755	3808	159			
557	6445	79		Abbondante essudato finibroso sulle due tonsille.	8 Marzo al 17 Marzo. Leggera tumefazione delle ghiandole del collo. Leggero tiraggio. Forma abbastanza grave. Temperatura massima 38º.4. **Guarigione.**
328	8427	79			
596	7824	39			
113	9897	—	—		
152	7314	119			
004	4531	79			
169	4008	79			
213	9897	79	4,933,000	Abbondante essudato fibrinoso sulle tonsille, ugola e pilastri.	30 Marzo al 1 Aprile. Discreta tumefazione ghiandole sottomascellari. Lievemente aumentata area cardiaca. Toni puri. Albumina 1.75 %. Cilindri. Temperatura massima 38º.9. Forma assai grave. **Morte.**
311	7314	79			
82.	7027	39			
510	10056	119			
528	10127	79			
3140	12362	198	4,866,000		

Croup difteri

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d'Esame
1	**Cecioni Luisa,** anni 2 ½. 6ª giornata.	Bacillo difterico, stafilococchi.	Behring. II. Behring. II.	Prima dell'iniez. ½ ora dopo 2 ore dopo 12 ore dopo 20 ore dopo II.
2	**Papini Adria.**	Bacillo difterico e stafilococchi.	Behring. I.	Prima dell'iniez. ½ ora dopo 6 ore dopo Prima di morire
3	**Bechi Gabriella,** anni 6. 6ª giornata.	Bacillo difterico in cultura pura.	Behring. II. Behring. I.	Prima dell'iniez. ½ ora dopo 6 ore dopo 24 ore dopo Prima della II. 18 ore dopo 36 ore dopo 48 ore dopo 11º giorno 12º giorno 15º giorno 18º giorno Prima di morire
4	**Maggioli Carlo.**	Bacillo difterico e stafilococchi.	Non si inietta.	All'ammissione Prima di morire

perati.

	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell'essudato	Osservazioni Cliniche
106	10374	119		Lieve essudato fibrinoso sulle tonsille.	Dal 5 Gennaio al 7 Gennaio. Tracheotomia. Molto ingrossate le ghiandole sottomascellari. Temperatura massima 41°.6. poco prima della morte.
113	9897	79			
810	11686	159			
550	13395	198			**Morte.**
351	18061	39	4,388,000		
470	18120	—		Stenosi laringea accentuata.	21 al 22 Dicembre. Tracheotomia. Forma gravissima. Estrazione di pseudomenbrana tracheale con ramificazioni bronchiali.
054	15985	119	—		
491	19182	437			
757	22101	159			**Morte.**
140	14906	198	4,666,000	Faringe arrossata senza essudato.	6 al 25 Gennaio. Tracheotomia. Dilatazione ventricolo destro. Focolai di broncopolmonite. bilaterale. Albuminuria prima crescente fino al 5‰ al giorno 15, poi decrescente fino alla morte. Temperatura massima 40°.8.
550	15343	119			
054	14985	—			
054	14429	119			
636	10408	119			**Morte.**
140	12362	198			
663	14588	79			
054	14985	119			
878	21147	198			
247	18960	437			
048	19159	437			
757	22101	159			
491	28182	437	4,000,000		
282	16766	159	—	Essudato sulle tonsille.	8 Gennaio.
895	21255	318			**Muore in poche ore.**

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d' Esame
5	**Scardigli Domenico,** anni 2 $^1/_2$. 8ª giornata.	Bacillo difterico e qualche stafilococco.	Behring. II. Behring. I.	Prima dell' iniez. 6 ore dopo 24 ore dopo 30 ore dopo Prima della II. 18 ore dopo 24 ore dopo 48 ore dopo 22 Gennaio 26 Gennaio 2 Febbraio Prima di partire
6	**Bargioli Bianca,** anni 2. 2ª giornata.	Bacillo difterico in cultura pura.	Behring. II. Behring. I. Behring. I.	Prima dell' iniez. $^1/_2$ ora dopo 6 ore dopo 24 ore dopo Prima della II. 24 ore dopo Prima della III. 6 ore dopo 24 ore dopo 24 Gennaio 30 Gennaio 6 Febbraio Prima di partire.
7	**Gabrielli Dores,** anni 2. 2ª giornata.	Bacillo difterico, streptococchi, stafilococchi.	Behring. II.	Prima dell' iniez. 2 ore dopo Prima di morire.

	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell' essudato	Osservazioni Cliniche
158	7332	755		Essudato fibrinoso su ugola e tonsille.	16 Gennaio al 10 Febbraio. Tracheotomia. Tracce di albumina. Forma assai prolungata. Temperatura massima 40°.7. **Guarigione.**
102	12322	—			
795	9917	198			
836	11608	119			
954	12862	—			
113	9897	79	—		
596	8824	39			
516	8188	39			
755	4808	159			
504	4531	457			
192	2962	39			
775	3081	—			
510	10056	477		Essudato sulle due tonsille.	17 Gennaio al 12 Febbraio. Tracheotomia. Ha avuto un focolaio di broncopolmonite destra. Temperatura massima 40°. Forma prolungata. **Guarigione.**
118	9897	79			
947	12844	119			
947	11169	—			
828	6688	39			
749	8427	278			
822	6727	39			
550	9222	39			
851	6035	39			
891	4598	397			
745	3843	79			
590	3008	119			
510	3690	—	5,000,000		
385	17609	159	—	Essudato grigio sulle tonsille.	17 al 18 Gennaio. Tracheotomia. Forma gravissima. Temperatura massima. 40°.7. **Morte.**
895	17509	198			
981	24272	238			

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d' Esame
8	**Bargioli Fosca,** anni 5. 4ª giornata.	Bacillo difterico in cultura pura.	Behring. II. Behring. I.	Prima dell'iniez.
				1/2 ora dopo
				6 ore dopo
				36 ore dopo
				1/2 ora dopo II.
				24 ore dopo II.
				12 Febbraio
				16 Febbraio
				20 Febbraio
				Prima di partire.
9	**Sgatti Augusto,** mesi 20. 7ª giornata.	Bacillo difterico, streptococchi, stafilococchi.	Behring. II.	Prima dell'iniez.
				1/2 ora dopo
				18 ore dopo
				Prima di morire.
10	**Barbetti Luigi,** mesi 17. 3ª giornata.	Bacillo difterico puro.	Behring. II.	Prima dell' iniez.
				1/2 ora dopo
				10 ore dopo
				Prima di morire
11	**Montagni Renato,** anni 3. 6ª giornata.	Bacillo difterico puro.	Behring. II.	Prima dell'iniez.
				6 ore dopo
				Prima di morire
12	**Carcassi Ottavia,** anni 7. 4ª giornata.	Bacillo difterico puro.	Siero Belfanti 1º cc. 30. 2º cc. 10.	Prima dell' iniez.
				6 ore dopo
				24 ore dopo
				4 ore dopo II.

	Polinucleati	Cellule midollari	Emasie	Caratteri dell'essudato	Osservazioni Cliniche
50	15343	—	—	Tonsille gonfie senza essudato.	7 al 23 Febbraio. Tracheotomia. Focolai sparsi di broncopolmonite alle due basi. Lieve albuminuria. Temperatura massima 39°.8. **Guarigione.**
47	12544	198			
13	15264	—			
86	21186	119			
49	14843	79			
81	20370	288			
52	12919	—			
65	8454	79			
22	4727	39			
83	4763	39			
45	13634	238	—	Qualche placca fibrinosa sulle tonsille.	4 al 6 Febbraio. Tracheotomia. Forma grave. Temperatura massima 40°.4. **Morte.**
00	15383	119			
78	18176	79			
47	18960	437			
24	24883	79	—	Leggero essudato posteriormente alle tonsille.	9 al 10 Febbraio. Tracheotomia. Forma gravissima. Temperatura 40°. **Morte.**
78	22147	198			
75	21182	79			
91	28182	437			
74	15741	159	—	Placca fibrinosa sulla tonsilla destra.	16 Febbraio. Tracheotomia. Forma gravissima. **Morte.**
54	14985	119			
24	24883	79			
47	12044	119	—	Essudato sulle tonsille.	4 al 7 Marzo. Tracheotomia. Lieve ingorgo ghiandole sottomascellari. Forma gravissima. **Morte.**
81	15780	198			
470	18420	—			
01	21768	89			

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d'Esame
13	**Romoli Dino,** anni 1. 4ª giornata.	Bacillo difterico puro.	Siero Belfanti cc. 15.	Prima dell'iniez.
				6 ore dopo
				24 ore dopo
14	**Toccafondi Sestilio,** anni 3 ½. 8ª giornata.	Bacillo difterico e cocchi.	Siero Belfanti nei giorni 12 13 14 25 Marzo.	Prima dell'iniez.
				½ ora dopo
				24 ore dopo
				1 ora dopo II.
				24 ore dopo II.
				24 ore dopo III.
				20 Marzo
				Prima della IV.
				24 ore dopo
				31 Marzo
				5 Aprile
				Prima di partire
15	**Bargioni Ada,** anni 3. 4ª giornata.	Bacillo difterico in cultura pura.	Siero Belfanti il 24 Marzo.	Prima dell'iniez.
				6 ore dopo
				24 ore dopo
				48 ore dopo
				31 Marzo
				Prima di partire

	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell' essudato	Osservazioni Cliniche
10	10056	477	—	Abbondante essudato sulle tonsille.	7 al 8 Marzo. Tracheotomia. Forma gravissima. **Morte.**
)1	17768	39			
50	22395	198			
92	12322	—	4,283,000	Scarso essudato sulle tonsille.	11 Marzo all'8 Aprile. Tracheotomia. Forma grave. Aumento dell' area cardiaca. Broncopolmonite sinistra. Paralisi del velopendolo. Sempre albumina in tracce minime. **Guarigione.**
73	10176	79			
56	11081	159			
95	11255	318			
34	13475	39			
64	15105	—			
65	14787	79			
28	14427	79			
96	16824	39			
95	7255	318			
08	5148	79			
49	8763	39	4,699,000		
11	8791	119	—	Essudato fibrinoso sulle tonsille.	24 Marzo al 7 Aprile. Tracheotomia. Lievissima albuminuria. Forma benigna. **Guarigione.**
27	12029	79			
08	9830	159			
94	7161	79			
11	5814	357			
75	3081	—			

Croup no

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto batteriologico	Iniezioni	Ore d'Esame
1	**Bagni Mario**, anni 4. 4ª giornata.	Bacillo piocianico.	Behring. I.	Prima dell' iniez. ½ ora dopo 6 ore dopo 24 » 48 » 9 febbraio 12 » 18 » 24 »
2	**Falciani Giulia**, mesi 20. 2ª giornata.	Stafilococco. Streptococco. Diplococco.	Behring II.	Prima dell' iniez. ½ ora dopo 2 ore dopo 24 » 48 » 25 Gennaio 27 » 6 Febbraio 8 »
3	**Ugolini Ghino**, mesi 20. 2ª giornata.	Cocchi Bacillo piocianico.	Behring. I.	Prima dell' iniez. ½ ora dopo 2 ore dopo 20 » 72 » Prima di morire.
4	**Boddri Giuseppe**, anni 3. 4ª giornata.	Molti cocchi e protei.	Behring. I.	Prima dell' iniez. 6 ore dopo 24 » 48 » Prima di partire.
5	**Peroni Lamberto**, mesi 18. 2ª giornata.	—	Behring. I.	Prima dell' iniez. ½ ora dopo 3 ore dopo 22 » 7 Marzo Prima di morire.

terici operati.

	Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell'essudato	Osservazioni Cliniche
2	5962	29	5,000,000		Tracheotomia.
0	4889	828			
0	7194	79	4,000,000		**Morto.**
3	5525	39			
7	4690	—			
5	13634	278			
0	15383	119			
4	14985	119			
1	22061	39			
8	8148	79			Tracheotomia.
7	9897	79			**Guarita.**
3	10136	159			
1	17768	39			
8	8427	79	—		
3	7632	755			
9	11527	198			
1	6598	397			
19	5848	79			
4	12362	—			Tracheotomia.
8	9977	79			**Morto.**
2	10772	—	—		
5	8466	39			
8	5644	39			
7	2931	39			
4	10374	—			Tracheotomia.
8	13515	—			**Guarito.**
8	8427	—	—		
6	4218	79			
9	5008	79			
4	7060	79			Tracheotomia.
74	7374	—			**Morto.**
8	3925	39			
4	2822	—	—		
11	3577	79			
6	954	238			

Angine n

Numero	Nome e Cognome età giornata di malattia	Reperto Batteriologico.	Iniezioni	Ore d'Esame
1	**Cassigoli Amelia,** anni 2. 6ª giornata.	—	Behring. I.	Prima dell' iniez. 6 ore dopo 24 » 48 »
2	**Risi Guido,** anni 2 ½. 3ª giornata.	—	Behring. I.	Prima dell' iniez. 6 ore dopo 24 » 48 »
3	**Vignolini Adamo,** anni 12. 5ª giornata.	—	Behring. I.	Prima dell' iniez. ½ ora dopo 24 ore dopo
4	**Calendi Alessandro,** anni 4. 4ª giornata.	—	Behring. I.	Prima dell' iniez. ½ ora dopo 6 ore dopo 24 »
5	**Ricci Guido,** mesi 18. 7ª giornata.	Stafilococchi e bacilli simili al difterico.	Behring. I.	Prima dell' iniez. 6 ore dopo 24 »
6	**Bianchini Bruno,** anni 2 ½. 6ª giornata.	—	Siero di Roma.	Prima dell' iniez. 2 ore dopo 6 » 24 »
7	**Berti Fernando.**	—	Siero di Roma.	Prima dell' iniez. ½ ora dopo 2 ore dopo 6 » 24 »

teriche.

Polinucleati	Cellule midollari	Emazie	Caratteri dell' essudato	Osservazioni cliniche
1431 2106 2623 2736	89 89 79 89	4,500,000		**Guarita.**
2226 2981 3816 5008	79 238 79 79	—		**Guarito.**
4809 2981 2822	— 79 —	—		**Guarito.**
2822 2525 4809 3140	39 89 79 79	—		**Guarito.**
2623 5843 7870	79 79 79	—		**Guarito.**
5286 5768 7478 8418	— 89 — 89	—		**Guarito.**
8889 8690 8021 3816 2941	— — 29 119 —	—		**Guarito.**

Bambini sani iniettati.

Numero	Nome e cognome età	Ore d'Esame	Leucociti	Mononucleati	Polinucleati	Cellule midollari
1	**Benoldi Angelo**	Prima dell'iniez.	6916	1232	5644	39
	anni 6	6 ore dopo	9881	636	8625	119
		24 »	7870	1078	6757	39
		48 »	6638	954	5684	—
		6 » II.	10374	1590	8784	—
		30 »	9738	1590	7950	198
2	**Bellesi Giuseppe**	Prima dell'iniez.	2424	318	2027	79
	anni 2	6 ore dopo	2498	1391	1987	119
		24 »	2345	686	1669	39
		72 »	2583	914	1590	79
3	**Barbieri Ugo**	Prima dell'iniez.	5601	1788	3776	39
	anni 2	6 ore dopo	9182	3657	5445	79
		31 »	7473	2782	4611	79
4	**Vannucci Gino**	Prima dell'iniez.	2206	1033	914	159
	anni 2 ½	6 ore dopo	6558	2504	3776	—
		24 »	5485	1629	3855	—

Laboratorio di Anatomia patologica del R. Istituto di Studi Superiori di Firenze.
Direttore Prof. G. Banti.

RICERCHE BATTERIOLOGICHE IN ALCUNI CASI DI BRONCHITE ACUTA

DEL

DOTT. S. DESSY

2° Aiuto.

Nei mesi di luglio e agosto dell' anno scorso, richiamato a prestar servizio per 20 giorni presso l' Ospedale Militare di Firenze, ebbi occasione di osservare e studiare alcuni casi di bronchite acuta svoltisi tutti in un reggimento di fanteria che aveva allora sede in questa città.

I casi da me studiati completamente furono cinque su tredici che se ne verificarono nei mesi di giugno e luglio: gli altri otto casi (sui quali non potei estendere in modo completo le mie ricerche, sia perchè guariti o in via di guarigione quando fui richiamato sotto le armi, sia per mancanza di tempo) somigliavano perfettamente per il decorso clinico e per la sintomatologia a quelli da me studiati.

In tutti la malattia aveva esordito con senso di malessere, cefalea, disappetenza, dolori vaganti toracici e dolori muscolari leggeri, ai quali nel 2° e 3° giorno si aggiungeva febbre, tosse, dolore urente retrosternale. La febbre per solito accompagnava la malattia in tutto il suo decorso, fino al periodo di risoluzione. Non era una febbre molto intensa, poichè di solito la temperatura non raggiungeva i 38 gradi nelle ore antimeridiane, e li superava di poco la sera. In un caso la storia clinica nota: decorso apirettico, ma poichè non sono notate sul registro nosologico le temperature dei singoli giorni non si può non dubitare un poco della verità di questa asserzione.

L' escreato era da prima molto viscoso, catarrale e diveniva rapidamente purulento fin dai primi giorni della malattia. La quantità dell' escreato, piccola nei primi 4 o 5 giorni, cresceva, col divenire muco purulento di esso, rapidamente nei giorni successivi, ed era in alcuni casi abbondantissima.

I segni fisici erano quelli soliti delle bronchiti acute. All' ascoltazione, nei primi giorni, si percepiva una musica assordante di ronchi e sibili, che divenivano via via più numerosi con l' estendersi del processo, e lasciavano presto il posto a rantoli a medie e piccole bolle disseminati pel torace, inspiratori ed espiratori. Il suono di percussione era perfettamente normale. Mai si ebbero i segni dell' estendersi dell' affezione ai piccoli bronchi o agli alveoli.

Credo, infine, non inutile di far notare che dei tredici infermi cinque appartenevano alla medesima compagnia. Ma su ciò, sulla disposizione delle camerate, sui modi possibili di contagio, non mi è riuscito, per ragioni indipendenti dalla mia volontà, di sapere nulla di preciso.

Passo alla storia dei casi da me studiati.

1° Caso. — A. Vincenzo, della 3ª compagnia, entra nell'ospedale il 19 luglio 1895, per catarro bronchiale acuto. Dice di essere ammalato dal 14 con febbre, cefalea e tosse: non sa mettere in relazione la sua malattia con cause reumatizzanti o di altro genere. All'ascoltazione ronchi e sibili da prima, poi rantoli a grosse e medie bolle disseminati per tutto il torace, più confluenti alla base, percettibili in entrambe le fasi respiratorie. Espettorazione dapprima mucosa, poi muco-purulenta, talora striata in rosso per sangue.

	Temperatura Mattino	Sera
20 luglio	37.1	38.1
21 »	37.7	38.2
22 »	37.2	38.7
23 »	37.5	38.4
24 »	37.4	38.3
25 »	36.8	37.2
26 »	36.8	36.9
27 »	37.0	37.1

L'ammalato esce dall'ospedale, guarito, verso la fine d'agosto.

2° Caso. — C. Calisto, della 3ª compagnia, entra nell'ospedale il 10 luglio 1895 per bronchite acuta.

È ammalato da 6 giorni; la malattia cominciò con corizza, disappe-

tenza, cefalea, dolori toracici vaganti, brividi febbrili, e poi tosse ed escreato da prima viscoso poi muco-purulento.

All'ascoltazione i soliti fatti della bronchite acuta. Il processo flogistico non si estende ai piccoli bronchi: l'escreato, in quantità molto notevole, conserva fino all'ultimo l'aspetto muco-purulento.

Il decorso della temperatura è il seguente:

		Mattino	Sera
12	luglio	36.8	36.9
13	»	36.7	36.9
14	»	37.3	37.4
15	»	37.3	37.7
16	»	37.9	38.2
17	»	38	37.5
18	»	37.3	37.1
19	»	36.8	37.6
20	»	37.3	37.6

L'ammalato esce guarito il 1° agosto.

3° Caso. — A. Rosario, della 3ª compagnia, è ricoverato all'ospedale il 10 luglio 1895 per bronchite acuta.

È ammalato da 10 giorni con i soliti sintomi. All' ascoltazione del torace si rilevano i soliti fatti. Escreato meno abbondante che nei casi precedenti, muco purulento dal giorno dell'ammissione fino al termine della malattia.

Mancano le indicazioni termometriche. L'ammalato esce guarito il 14 agosto 1895.

4° Caso. — P. Eugenio, dell' 8ª compagnia, è ricoverato all' ospedale il 13 luglio 1895 per catarro bronchiale acuto.

È ammalato dai primi del mese con la solita fenomenologia.

All'ascoltazione numerosi rantoli umidi a grosse e medie bolle, inspiratori ed espiratori, e qualche ronco. Escreato abbondante, muco-purulento, talora striato in rosso da sangue.

Il decorso termico è il seguente:

		Mattino	Sera
15	luglio	37.9	38.9
15	»	37.6	39.3
17	»	38	38.3
18	»	37.5	38.2
19	»	38	37.5
20	»	37.4	38
21	»	38.2	37.5
22	»	38	37.5
23	»	38	37.5
24	»	37.2	37.8
25	»	38.8	37.7
26	»	37.1	38
27	»	37.7	38.1
28	»	38.2	36.8
29	non fu preso		
30	»	37.1	37.2

Dopo questo giorno la temperatura non venne più misurata, essendo le condizioni generali dell'ammalato molto migliorate. La tosse continuò ostinata, con escreato molto copioso. L'infermo non potè lasciar l'ospedale che il 21 agosto.

5° **Caso.** — A. Carmelo dell' 11ª compagnia, entra nell' Ospedale il 18 luglio 1895 per bronchite acuta.

Dice di essere ammalato da 18 giorni, con tosse, brividi febbrili, cefalea, disappetenza, ecc.

Con l'esame del torace si rilevano i soliti fatti. L'escreato è abbondante, muco-purulento dal giorno dell'ammissione fino al termine della malattia.

La temperatura è la seguente:

	Mattino	Sera
20 luglio	37.8	37.5
21 »	38.1	38.2
22 »	38.1	38.2
23 »	37.3	37.7
24 »	38	37.8
25 »	37.4	37.9
26 »		
27 »	37.4	37.3
28 »	37.5	37.6
29 »	36.9	37.3
30 »	37.6	37.1

L'ammalato esce guarito verso la fine di agosto.

Credo inutile di insistere sul decorso clinico, sui caratteri della curva termica, ecc., e passo senz' altro all'esposizione delle ricerche batteriologiche da me eseguite ripetutamente per ciascuno di questi cinque casi.

E dirò subito che in nessuno di questi 5 casi l' esame batterioscopico dell' essudato dimostrò la presenza dei bacilli della tubercolosi o dell' influenza; e farò anche notare che in quell' epoca non esistevano in Firenze malati di influenza.

L' esame microscopico dell' escreato fu ripetuto per ciascun caso un numero molto grande di volte. In tutti cinque i casi in mezzo a numerosi linfociti, molti dei quali eosinofili, potei constatare la presenza di numerose forme diplococciche resistenti al Gram. Talora due diplococchi erano riuniti per uno dei loro estremi a formare delle corte catene di quattro elementi: raramente si avevano catene di sei elementi, risultanti dalla unione su una medesima linea di tre diplococchi. Qua e

là i cocchi formavano dei piccoli ammassi, somiglianti a quelli degli stafilococchi, ma subito si vedeva che questi grappoli erano costituiti da un certo numero di diplococchi ravvicinati. Molti dei cocchi erano isolati, ed in questo caso si mostravano talora un poco allungati somiglianti a cortissimi batteri ad estremità arrotondate: probabilmente rappresentavano i primi stadi della scissione ed era facile vedere forme a queste in tutto somiglianti, nelle quali però esisteva un lieve accenno ad uno strozzamento nel senso della larghezza. Il numero di questi cocchi isolati, o riuniti a due, od in corte catene era straordinariamente grande nell' acme della malattia (più di 50 per campo, microscopio Leitz, oculare 4, obiettivo ad immersione omogenea $^1/_{12}$), scarso all' inizio nei casi che potei studiare fin dai primi giorni della malattia, progressivamente decrescente coll' approssimarsi della guarigione.

Per la forma questo cocco differiva così dai cocchi della polmonite come da quelli dell' eresipela. Infatti se i cocchi isolati erano tondi o leggerissimamente allungati (mai lanceolati), quelli accoppiati e quelli formanti le catene erano leggermente schiacciati dove i cocchi si guardavano, ed avevano perciò una certa rassomiglianza di forma col gonococco. Dai cocchi della polmonite differivano anche perchè con nessuno degli artifici consigliati si riusciva a dimostrare attorno ad essi una capsula. Ed anche differivano dal pneumococco e dal cocco dell' eresipela per le dimensioni, poichè erano di entrambi alquanto più piccoli. Oltre che col metodo del Gram, si colorivano con le solite soluzioni di anilina facilmente ed intensamente: approfondendo l' esame si vedevano oltre questi cocchi intensamente colorati, altri più piccoli, talora piccolissimi, appena colorati, a contorni mal definiti, aggruppati a diplococco. Si trattava probabilmente di forme d' involuzione, libere in parte, in parte contenute nell' interno dei leucociti, più abbondanti, rispetto ai cocchi ben colorati, nel periodo decrescente della malattia.

Infine, nel quinto caso esistevano anche alcuni scarsi bacilli, lunghi quanto quelli della tubercolosi, più grossi però, che non si coloravano col metodo dello Ziehl, resistevano al Gram,

e non crebbero sui terreni nutritizi. Si trattava probabilmente di microrganismi indifferenti, che non avevano che fare col processo bronchiale. Infatti non in tutti gli esami furono trovati, e forse non crebbero sulle culture perchè per preparare queste gli sputi venivano abbondantemente lavati e si portava via così la parte più periferica di ogni blocco di escreato, nella quale detti bacilli erano probabilmente passati dalla bocca. Nel quarto caso, poi, in qualcuno degli esami si trovò una innocua sarcina, che crebbe anche nelle colture.

Per preparare queste, procedevo nel modo seguente. Dopo aver fatto sciacquare ripetutamente la bocca al malato con soluzione di sublimato ad $^{1}/_{4}$ per mille e di acido fenico all'1 per cento, lo invitavo a sputare in una scatola di Petri sterilizzata, che veniva poi immediatamente ricoperta ed usata per l'esame. Questa raccolta del materiale da esaminare era fatta di solito una mezz'ora od un'ora prima del pasto principale o di quello della sera, per averla più che fosse possibile libera da ogni inquinamento accidentale per opera dei batteri degli alimenti. Le manipolazioni successive talora erano fatte nel gabinetto di microscopia annesso all'Ospedale Militare stesso, dove io portavo il materiale sterilizzato dal nostro Istituto d'Anatomia patologica; talora invece erano fatte nel nostro Laboratorio, ove sempre eseguii le culture e gli esperimenti sugli animali.

Per orizzontarmi intorno alla quantità di materiale da adoperare in ogni disseminazione, preparavo prima con le solite cautele un vetrino con un frammento dell'escreato; poi, secondo il metodo di Koch, che permise a questo scienziato di ottenere in cultura i bacilli tubercolari dagli sputi dei tisici, lavavo bene in acqua od in brodo sterilizzati ciascun blocco, ripetendo l'operazione quattro o cinque volte per ciascun caso. Rimaneva così la parte centrale del blocco d'escreato libera dall'alone mucoso e salivare che la circondava: con essa preparavo le colture, i vetrini, inoculavo gli animali.

Le culture erano fatte o in piastre d'agar, o col metodo di disseminazione del prof. Banti, portando cioè il materiale nell'acqua di condensazione di un tubo d'agar, e facendo poi scorrere quella sulla superficie consolidata a becco di flauto del

mezzo nutritizio. A questo ultimo metodo, perchè più semplice e più sicuro, e perchè non mi interessava di numerare le colonie, davo di solito la preferenza. Feci anche piastre di gelatina, che conservavo in una ghiacciaia ad una temperatura oscillante fra 18 e 20 gradi.

Eccetto il quarto caso, da cui ottenni anche una sarcina, ebbi sempre in cultura pura, nelle piastre e nei tubi d'agar, un microrganismo di cui riferirò subito i caratteri. Le piastre di gelatina rimasero sterili, eccetto nel 4° caso, in cui si ebbe il lento sviluppo di una sarcina gialla.

Anche per i caratteri culturali il microrganismo da me isolato differiva alquanto dai comuni cocchi patogeni.

Colture per disseminazione su agar consolidato a becco di flauto. — Colonie assai piccole, rotonde, poco rilevate, grigiastre, con leggeri riflessi azzurrognoli se l'agar era poco colorito e molto trasparente, somiglianti alquanto per le dimensioni e l'aspetto a quelle dello streptococco piogeno.

Colture per strisciamento su agar. — Solo portando molto materiale si ottiene una striscia continua, poco rilevata, grigiastra, dentellata, che guardata da vicino risulta costituita da numerose piccole colonie rotonde. Ai lati della striscia si trovano numerose altre colonie isolate identiche a quelle ottenute per disseminazione. L'acqua di condensazione è appena opaca, con poco deposito polverulento al fondo.

Colture per infissione in agar. — Lungo la linea d'infissione numerose piccole colonie ravvicinate, che danno un aspetto irregolare alla coltura: non si sviluppano colonie attorno al punto d'infissione. L'aspetto della cultura è molto somigliante a quello dello streptococco.

Colture in brodo. — Cresce in brodo lentamente: anche dopo molti giorni il brodo conserva una opacità uniforme, tenue come quella data dal diplococco: sul fondo della provetta si accumula poco deposito polverulento.

Colture su siero di bove coagulato. — Cresce bene sul siero, in colonie piccole, appena rilevate, un poco lucenti.

Colture su patate. — Cresce su patate, ma la vegetazione è poco visibile. Lungo la stria di innesto ed ai lati di essa, per

una estensione varia secondo il grado di umidità della patata, si vede come un sottile velamento lucido.

Colture in gelatina. — Non cresce in gelatina nè a 20 nè a 23 gradi.

Colture in agar lattosato con tornasole. — Non scompone il lattosio, e non arrossa il tornasole bleu.

Colture in latte. — Cresce bene nel latte, e lo coagula in finissimi fiocchi.

La vitalità di questo microrganismo era poco notevole. Da prima occorrevano per mantenerlo in vita trapianti frequenti, ogni due o tre giorni. Lentamente poi il cocco si abituò alla vita saprofitica, ma non mi fu mai possibile di mantenerlo in vita più di 6 o 7 giorni, tanto che dopo circa due mesi di pazienti cure, non avendo potuto una volta rifare i trapianti che dopo nove giorni, li vidi con mio dolore restare tutti sterili.

Caratteri morfologici. — Dissi già come negli sputi i cocchi fossero talora isolati, più spesso riuniti in coppie, raramente in catenelle di un numero pari di elementi. Queste tre forme le ritroviamo anche nei mezzi nutritivi.

Nelle colture in brodo, in latte, o nell'acqua di condensazione delle colture su agar, si hanno cocchi accoppiati e catenelle di solito costituite da un numero pari di cocchi, manifestamente raggruppati a due, resistenti al Gram. Le dimensioni dei cocchi sono quelle stesse trovate nell' esame microscopico dell'essudato. Le catene raramente sono costituite da un numero dispari di cocchi, meno raramente la distanza fra i vari cocchi di una catena si conserva sempre uguale e non si ha l'aggruppamento a diplococco: il numero degli articoli raggiungeva talora la cifra di 32, più spesso era di 8-12. In una stessa catena, specialmente nelle colture più vecchie, si possono avere cocchi tondi o leggermente schiacciati, altri fortemente schiacciati nel senso trasversale, altri ovolari, molto più grossi, o variamente deformi.

Nelle colture su agar prendendo una colonia e colorandola dopo distesa su vetrino, si vedevano: 1° cocchi isolati, di solito regolarmente tondi; 2° cocchi accoppiati; 3° cocchi in gruppi simili a quelli degli stafilococchi, risultanti però molto

spesso dal ravvicinamento di alcuni diplococchi; 4° cocchi in catene più o meno lunghe, in tutto somiglianti a quelle ottenute con le colture in brodo. Le forme di involuzione erano qui più abbondanti che non in brodo, già fino dai primi giorni. Anche qui in una stessa catena potevano aversi cocchi piccoli rotondeggianti o leggermente schiacciati, ed altri più grossi quattro o cinque volte, di solito ovali.

Esperienze sugli animali. — L' inoculazione sottocute dello sputo nella quantità di $^1/_2$ cc. produceva nelle cavie e nei conigli in capo a due soli giorni vasto edema, nel cui seno si formava rapidamente un ascesso, che nei conigli poteva raggiungere le dimensioni di un' arancia. Se non veniva aperto chirurgicamente, l'ascesso si apriva da sè e dava esito ad una grande quantità di pus denso, d'aspetto caseoso. Ciò succedeva di solito fra il 5° ed il 7° giorno. L'animale intanto dimagrava e fra i 10 ed i 18 giorni dall'inoculazione moriva. Alla necroscopia si trovavano sottocute dei focolai purulenti incapsulati, e se l'inoculazione era stata fatta sotto la pelle della parete addominale poteva anche aversi per propagazione una peritonite a scarso essudato fibrino-purulento. Negli altri visceri nulla di speciale all'infuori di un poco d'iperemia renale e qualche volta dei piccoli focolai polmonari rossi, non respiranti, non so bene se per atelettasia o per flogosi.

L'esame microscopico del pus dimostrava la presenza in esso di cocchi accoppiati colorabili col metodo del Gram, talora riuniti in catene di due diplococchi, talora in piccoli cumuli di cocchi accoppiati. Accanto alle forme bene colorabili ne esistevano altre più piccole, a contorni poco netti, scolorate, forme regressive certamente, che somigliavano molto a quelle trovate nello sputo. Lo stesso reperto si aveva nell'essudato peritoneale. Con nessun metodo mi riuscì dimostrare una capsula intorno ai cocchi. Nel sangue non si vedeva di solito che qualche dubbia forma coccica isolata.

Le culture fatte dal pus degli ascessi aperti chirurgicamente diedero luogo sempre allo sviluppo in coltura pura del cocco isolato dagli sputi. Lo stesso risultato si ebbe nelle culture fatte con l' essudato peritoneale, mentre quelle fatte

col sangue rimasero sempre sterili, anche se fatte dall'animale vivo.

Altre ricerche furono fatte con la inoculazione delle colture in brodo ottenute dagli sputi, o dal pus degli animali inoculati. A questo proposito devo subito notare che solo le colture fatte direttamente dagli sputi o dal pus hanno dimostrato qualche virulenza: nei trapianti ogni virulenza spariva, e non mi erano noti ancora, d'altra parte, i metodi escogitati da Marmorek per conservare nelle culture la virulenza degli streptococchi.

L'inoculazione sotto cute del cocco tolto dalle culture produceva nei conigli e nelle cavie rossore ed edema, con aumento della temperatura locale e generale. L'edema era esteso, compariva al 2° giorno ed al 4° o 5° cominciava a retrocedere. Solo in un caso (coniglio) si ebbe la formazione di un piccolo ascesso in seno alla zona edematosa. Gli animali di solito guarivano: se morivano la morte avveniva dopo molti giorni, essendo l'animale molto dimagrato: le colture fatte dal sangue e dalla milza rimanevano interamente sterili.

Feci anche una inoculazione nel peritoneo ad una cavia e ad un topo, una sotto cute ad un topo, una in trachea ad un coniglio. Il materiale (culture) per queste inoculazioni proveniva direttamente dagli sputi del 5° caso. In capo a 6 giorni la cavia ed il topo morirono: nel peritoneo non esisteva essudato visibile: facendo dei vetrini col prodotto della raschiatura del peritoneo parietale, si vedevano in mezzo a molti linfociti, scarsi diplococchi assai esili, somigliantissimi alle forme regressive osservate negli sputi. Le colture dal peritoneo e dal sangue rimasero sterili.

Il topo inoculato sotto cute, avendo trovato l'usciolino della gabbia aperto, credè bene di fuggirsene, e per quante trappole gli avessi teso non mi riuscì di riacchiapparlo.

Il coniglio fu inoculato in trachea con poche gocce di cultura in brodo il 7 agosto. Temperatura al momento della inoculazione 37.5, l'8 agosto 40.5, il 9 agosto 40.5, il 10 agosto 40.3, l'11 agosto 39. Lo uccido: la trachea ed i bronchi sono iniettati, ma non vi è essudato visibile: i vetrini preparati col

prodotto di un leggero raschiamento contengono leucociti in discreto numero e scarsi cocchi accoppiati, evidentemente involuti. Colture sterili, dalla trachea e dal sangue.

Ed ora ci si presenta subito alla mente questa domanda: il microrganismo isolato da questi casi di bronchite era l'agente patogeno di queste flogosi bronchiali? L'averlo trovato costantemente ed allo stato di purezza nei casi da me studiati, la stretta relazione fra la quantità di esso negli sputi ed il decorso dell'affezione, lo spiccato potere flogogeno e piogeno di esso, così se iniettato sotto cute che se inoculato in trachea, fanno pensare ragionevolmente che il microrganismo di cui è parola fosse, nei casi riferiti, il solo agente patogeno. Non è improbabile che anche negli altri casi che non potei studiare si trattasse di una identica infezione, e per la identicità della sintomatologia e per il fatto che si trattava di soldati di un medesimo reggimento, esposti in generale alle medesime cause morbose e per i quali il contagio poteva facilmente operarsi. Di questi altri casi, per la ristrettezza del tempo, o perchè verificatisi prima o dopo il mio periodo di servizio militare, non potei occuparmi. Solo dovetti limitarmi a preparare con l'escreato qualche vetrino, e sempre ebbi il reperto caratteristico dei cocchi accoppiati o riuniti in corte catene di quattro individui, bene colorabili con la genziana, e dei cocchi pallidi a contorni mal definiti, involuti.

Se il microrganismo da me isolato era causa delle bronchiti nei casi da me descritti, con quale dei cocchi patogeni noti lo identificheremo od a quale lo ravvicineremo?

È evidente come siano il diplococco e lo streptococco, che per le proprietà patogene e per l'aspetto delle colture somigliano maggiormente al cocco da me isolato.

Senza dubbio per certi caratteri esso si avvicina al diplococco; cioè per la spiccata tendenza a formare delle coppie di cocchi o delle brevi catene di coppie di cocchi; per non svilupparsi nella gelatina a 20°-22° C.; per la rapidissima perdita del potere patogeno e per la breve vitalità nei mezzi di coltura. D'altra parte però esso non presentò mai la forma lanceolata; non si dimostrò mai provvisto di capsula nè nell'escreato uma-

no, nè nel pus o nel sangue degli animali; non determinava la setticemia caratteristica nei conigli o nei topi.

Per tali ragioni sembrerebbe che il cocco da me studiato non appartenesse alla specie *diplococcus capsulatus lanceolatus*, ma ripensando alla facilità con la quale il diplococco si modifica formando delle varietà, sarebbe arrischiato emettere un giudizio reciso ed escludere la possibilità che si trattasse di un diplococco molto attenuato.

Forse maggiori analogie esso presentava con lo strettococco, ma anche ammettendo ciò, a quali specie e varietà di strettococchi si potrebbe ascrivere?

Il gruppo degli streptococchi è stato variamente diviso. Da prima si era differenziato lo streptococco dell'eresipela da quello della suppurazione in base ai caratteri culturali e ad una pretesa diversità nel potere patogeno, ma presto fu dimostrata l'incostanza dei primi e la grande variabilità del secondo, e chi oggi si ostinasse a fare delle classificazioni in base a questi due caratteri variabilissimi, non potrebbe seriamente essere creduto. Lingelsheim ha voluto dividere gli streptococchi in due grandi categorie, lunghi e brevi, basandosi sull'aspetto delle colture in brodo: gli streptococchi brevi non erano patogeni ed intorbavano uniformemente il brodo, formando talora uno scarso sedimento; i lunghi non intorbavano il brodo e formavano solo un sedimento fioccoso, mucoso, ecc. difficilmente disgregabile. Questi streptococchi lunghi erano dotati di proprietà patogene. Ma gli streptococchi che erano brevi in brodo, nelle mani stesse di Lingelsheim divenivano lunghi se coltivati nel siero liquido di bove, formandovi il sedimento caratteristico degli streptococchi lunghi. Marmorek ha visto uno streptococco lungo trasformarsi in uno breve e viceversa, nei passaggi per animale, senza diminuzione nè esaltazione della virulenza. Pasquale, esaltando la virulenza di uno streptococco tratto dall'organismo umano, vide che poteva avere indifferentemente catene lunghe o brevi, e che le brevi di solito coincidevano con una esaltazione della virulenza. Molti altri esempi possono citarsi che dimostrano l'artifiziosità della classificazione di Lingelsheim. Marot ha proposto una classificazione degli streptococchi se-

condo che crescono o no su patate. Anche a questa classificazione manca ogni seria base. A dimostrarne l'artificiosità sta già il fatto che esistono streptococchi a cultura apparente su patate, altri a cultura non apparente: di questi taluni hanno una vegetazione così stentata che non vi è mezzo di stabilire se veramente si abbia accrescimento del microbio o se solo vi rimangano vivi quelli che vi abbiamo portato noi nel fare la seminagione.

D'altra parte un medesimo streptococco invecchiando in una coltura in brodo può perdere la facoltà di crescere sulle patate, che prima aveva spiccata, pur non perdendo l'attitudine a svilupparsi sugli altri terreni di cultura (Lemoine). Altre classificazioni sono state proposte in base ai caratteri morfologici ed al potere patogeno riuniti insieme (Pasquale), ma a confessione stessa di chi le ha escogitate hanno, come le altre, un valore molto dubbio. Sul ricambio materiale ha basato una sua classificazione De Sieber Schumoff, ma chi sa quanto siano variabili i prodotti del ricambio di questi piccoli esseri a seconda di variazioni, che ci sfuggono, nella costituzione dei mezzi di cultura, e di speciali proprietà impresse a questi microbi da condizioni che pure ci sfuggono interamente, non può accettare una tale classificazione.

Gli streptococchi costituiscono una famiglia polimorfa che male può costringersi nei limiti delle classificazioni artificiali. La grossezza dei grani può essere diversa per uno stesso streptococco a seconda della costituzione del terreno di coltura (Marmorek). Possono in una medesima catena aversi cocchi piccoli e cocchi grossi (Widal e Besançon). L'aggruppamento a diplococco nelle catene non è, come vorrebbe Barbier, una caratteristica degli streptococchi della bocca, poichè lo si può avere anche per streptococchi di provenienza svariata, può sparire nei trapianti, ed in una stessa catena si possono avere cocchi raggruppati in coppie e cocchi equidistanti. Il potere di acidificazione è incostante per uno stesso campione. Incostante è pure la facoltà di coagulare il latte. Uno streptococco che non coagula il latte può coagularlo dopo qualche soggiorno in pipette chiuse (Widal e Besançon). L'aspetto delle colture su agar è

pure fallace. Era stato ammesso da taluni come caratteristico degli streptococchi delle mucose un certo riflesso azzurrognolo delle colonie su agar. Ma questo riflesso può sparire nei successivi trapianti e le colonie assumere un aspetto identico a quello delle colonie dello streptococco piogeno. Si può gradatamente abituare a crescere in gelatina uno streptococco che prima non vi cresceva (Pasquale). Uno streptococco che non resiste al Gram in un essudato può resistervi nelle colture, e può anche aversi il caso che il Gram scolori questo microrganismo nelle prime colture e non lo scolori più nei trapianti. Io stesso descrissi, a proposito di quel mio caso di nefrite da stafilococco albo, uno streptococco, rinvenuto nel cadavere, che si colorava o no col metodo del Gram a seconda della durata del bagno nel liquido del Lugol. Alcuni streptococchi hanno un potere cromogeno più o meno spiccato. È sufficiente questo carattere per differenziarli, per costituirli in un gruppo a parte? Risponderò con due fatti: nelle mani di Pasquale alcuni streptococchi (specialmente uno tratto dal cadavere di un tubercoloso) assumevano una spiccata colorazione con l'aumentare della loro virulenza, così che di uno stesso streptococco poteva aversi una varietà acromogena ed una cromogena, trasformabili l' una nell'altra con la esaltazione o la menomazione del potere patogeno. Il secondo fatto che voglio riferire è il seguente: Leroy in una coltura in gelatina conservata con ogni cura per preservarla da qualunque inquinamento accidentale, e quasi secca, vide dopo più di un anno rigermogliare uno streptococco dell' eresipela che vi aveva seminato. Facendo i trapianti e le inoculazioni nel coniglio potè assicurarsi che non era successo inquinamento alcuno, e perchè nei primi ebbe l'aspetto caratteristico della cultura dello streptococco dell'eresipela, e perchè ottenne nel secondo una eresipela caratteristica. Ma le colture su agar differivano per un carattere nuovo da quelle del cocco dell' eresipela: esse avevano cioè una fluorescenza verde-gialla nettamente apprezzabile. D'altra parte il potere cromogeno degli streptococchi non è stato finora oggetto di uno studio serio ed accurato, e sarebbe almeno prematuro volersi basare su di esso per stabilire delle specie nuove.

Date le incertezze odierne sulla sistematica degli streptococchi, io mi debbo limitare a dire che per la sua tendenza a presentarsi in catenelle, per la sua forma, per la mancanza di capsula, per lo spiccato potere piogeno, il cocco da me isolato rassomiglia a quei microrganismi che si aggruppano sotto il nome di *streptococcus pyogenes*, senza pretendere di classarlo con precisione maggiore.

In conclusione il cocco da me isolato nelle bronchiti rassomiglia per alcuni caratteri al diplococco, per altri allo streptococco; mi mancano argomenti precisi per decidere con sicurezza a quale tra le due famiglie appartenga, benchè propenda ad annoverarlo fra gli streptococchi. Disgraziatamente non mi fu dato di approfondire il problema servendomi di altri mezzi d' indagine. Infatti la rapidissima perdita della virulenza dimostrata dal batterio mi resero impossibile fare ricerche sull' immunità specifica secondo il metodo del Pfeiffer. Ad ogni modo mi sembra che il cocco da me isolato abbia molti dei caratteri attribuiti dai vari autori agli streptococchi delle mucose, che vivono normalmente nella nostra bocca, nella vagina, ecc., e che sono di solito poco o punto patogeni. Nei casi da me descritti si potrebbe quindi ammettere che questi cocchi della bocca normale, acquistata in un modo qualunque quella virulenza che loro mancava, l'abbiamo poi esplicata sulla mucosa bronchiale, determinandone la flogosi.

Sento il dovere di ringraziare il signor Maggiore medico Volino che mi ha permesso di fare queste ricerche sugli ammalati del suo *riparto.*

BIBLIOGRAFIA.

ACHALME, Th. de Paris, 1892.

BABES, Ueber path. Bakterien des Kindesalters. (Wien. med. Presse, 1887, n. 10.)

— Les associations bactériennes dans la tubercolose. (Ann. de l'Inst. de Path. et de Bacter. de Bucarest, a. I, 1890.)

BARBIER, Des quelques associations microbiennes dans la diphtérie. (Arch. de méd. expér., 1891.)

—— Sur un streptocoque particulier trouvé dans les angines a fausses membranes, seul ou associé au bacille de la diphtérie (diplostreptocoque). (Arch. de méd. expér., 1892.)

BAUMGARTEN, Lehrbuch der pathologischen Mycologie, 1888.

BEHRING, Centralb. f. Bakt., XII, 6.

BESSER, Ueber Bakterien der normalen Luftwege. (Ziegler's Beiträge, Bd. VI, H. IV, S. 331.)

BIONDI, Deut. med. Wochens., 1886, n. 3.

—— Die pathogenen Microorganismen des Speichels. (Zeit. f. Hygiene, Bd. II, 1887, Heft 2, S. 194 e Riforma Medica, n. 93–97, 1888.)

BOURGES et WURTZ, Recherches bactériologiques sur l'angine pseudodiphtérique de la scarlatine. (Arch. de méd. expér., 1890, pag. 341.)

CASSEDEBAT, Note sur les streptocoques. (Lyon médical, 31 mars 1895.)

CLAISSE, Les infections bronchiques. — Paris, G. Steinheil, 1893.

DAVID, Les microbes de la bouche. — Edit. Allar, 1890.

DE SIEBER SCHUMOFF, Arch. des Sciences biolog. de l'Inst. Imp. de méd. expér. de Saint-Pétersbourg, 1892, t. I, n. 1, 2, 3.

D'ESPINE et MARIGNAC, Sur une espèce particulière de streptocoque retiré du sang d'un scarlatineux. (Arch. de Méd. expér, pag. 458, 1892.)

DOLERIS et BOURGES, Note sur un streptocoque a courtes chainettes se cultivant sur pomme de terre, trouvé dans le pus d'un abcès pelvien. (Compt. Rendus de la Soc. de Biologie, pag. 1051, 1893.)

ETIENNE, Note sur les streptocoques décolorables par la méthode de Gram. (Arch. de Méd. expér., 1895.)

FLÜGGE, Die Mikroorganismen, 1886.

HELL, Vergleichende Untersuchungen über die Brustsenchekokken und die Streptokokken des Eiters und Erysipels. (Zeitsch. f. Veterinärkunde, Jahrg. II, 1890, n. 3.)

KREIBOHM, Ueber das Vorkommen pathogener Mikroorganismen im Mundsecret. (Inaug. Dissert., Göttingen, 1889.)

KRUSE W., PAUSINI u. PASQUALE, Influenzastudien. (Cent. f. Bakt. u. Parasit., Bd. VII, 1890, n. 21.)

LEMOINE, Contribution à l'étude bactériologique des angines non-diphtèriques. (Annal. de l'Inst. Pasteur, 1895.)

LEROY, Contribution a l'étude biologique du microbe de l'érisypèle. (Comptes Rendus, etc., 1889, pag. 671.)

LEMOINE, Variabilité dans la forme et dans les caractères de culture du streptocoque. (Arch. de Méd. expérim., mars 1896.)

LINGELSHEIM, Experim. Untersuch. über morphol. Cultur und pathol. Eigenschaft verschied. Streptokokken. (Zeit. f. Hyg., 1891, pag. 2.)

MARMOREK, Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. (Ann. de l'Inst. Past., 1895.)

MAROT, Un streptocoque à culture apparente sur pomme de terre. (Arch. de Méd. expér., pag. 548, 1893.)

— Note sur un caractère différentiel d'un streptocoque de la bouche. (Comptes Rendus de la Soc. de Biologie, 5 novembre 1892.)

— Thèse de Paris, 1893.

MILLER, Die Microorganismen der Mundhöle. — Leipzig, 1889.

MOSNY, Note sur un cas de broncho-pneumonie érysipèlateuse sans érysipèle externe. (Arch. de Méd. expér., 1890. pag. 272.)

NETTER, Microbes pathogènes contenus dans la bouche des sujets sains, etc. (Revue d'Hygiène, 1889, n. 6.)

— Présence du streptocoque pyogène dans la salive des sujets sains. (Bullet. méd., a. II, 1888, n. 59.)

NIKIFOROFF, Ueber einen dem Diplococcus pneumoniae sehr ähulichen Mikroorganismus. (Zeit. f. Hygiene, 1890, Bd. VIII, pag. 531.)

PANSINI, Bakteriologischen Studien über den Auswurf. (Arch. f. Path. An. und Phys., Bd. CXXII, H. 3, 1890.)

PASQUALE, Ricerche comparative sugli streptococchi. (Giornale medico del R. Esercito e della Marina, 1893, pag. 611.)

— Ulteriori ricerche sugli streptococchi delle muccose, e contributo all'etiologia della corizza. (Giorn. intern. delle Scienze mediche, anno XII, 1890.)

PODBIELSKY, Untersuchung der Mikroben der Mundhöle von Erwchsenen und Kinder in gesunden Zustand. (Centralb. f. Bakt., 18, 19, 1891.)

QUEYRAT, Microorganismes dans la tracheo-bronchite simple. (Gaz. méd., n. 10, 1893.)

RAPIN, Des bactéries de la bouche à l'état normal et dans la fièvre typhoide. — Paris, Doin, 1881.

VEILLON, Thèse pour le doctorat, 1894.

VEILLON et HALLÉ, Étude bactériologique des vulvo-vaginites chez les petites filles, et du conduit vulvo-vaginal a l'état saine. (Arch. de Méd. expér., 1896.)

VIGNAL, Recherches sur les microorganismes de la bouche. (Arch. de phys. et path., vol. VIII, 1886, vol. X, 1887.)

WIDAL et BEZANÇON, Étude des diverses variétés des streptocoques. Insuffisance des caractères morphologiques et biologiques invoqués pour leur différenciation. (Arch. de Méd. expér., 1896, n. 3.)

WIDAL, Thèse de Paris, 1889.

Istituto Anatomico di Firenze, diretto dal prof. G. Chiarugi.

SULLA DISTRIBUZIONE DEL TESSUTO ELASTICO
IN VARII ORGANI DEL CORPO UMANO.

PRIMA NOTA

DEL

DOTT. FERDINANDO LIVINI

Aiuto.

Son presto contati gli organi del corpo umano nei quali l'elemento elastico sia stato studiato accuratamente: il primo posto spetta senza dubbio alla pelle; vengono poi i vasi sanguigni, alcune parti dell'apparato respiratorio, alcune degli organi genitali femminili e qualche altra: per il resto, a quanto io mi sappia, ci si contenta di accennare che il connettivo è più o meno abbondantemente provvisto di fibre elastiche, o, tutto al più, che esse fibre sono sottili o grosse, che formano reti a maglie strette o larghe. Se d'altro canto noi consideriamo che l'elemento in parola prende una parte tanto considerevole nella costituzione degli organi, non solo, ma che nei varii organi assume una disposizione tanto svariata, conviene riconoscere come a torto ne sia stato in tal modo trascurato lo studio. Anzitutto la conoscenza esatta di esso molto ci gioverà per la migliore intelligenza della funzione che sta a disimpegnare; inoltre una descrizione minuta, particolareggiata, in luogo di quella schematica che comunemente si dà, potrà avere utilità pratica, così ad es. per porre in raffronto tessuti normali e patologici. In seguito a tali considerazioni io mi son prefisso di studiare metodicamente il tessuto elastico nei varii organi normali del corpo umano, nell'adulto e nel neonato, ed i resultati

andare pubblicando in una serie di note. Ho pronto da tempo abbondante materiale, e già ho reso note le ricerche praticate, oltrechè sotto altro rapporto, anche in questo senso, nella trachea dell' uomo e di altri vertebrati (16).

Debbo ricordare a questo punto come da Martinotti (18), che propose l' uso del nitrato d' argento per la dimostrazione delle fibre elastiche, fu ricercato il modo di comportarsi di queste ultime in alcuni organi; ma, mentre egli ne dà una accurata descrizione nei muscoli tanto lisci che striati, per il resto non fa che sfiorare l'argomento. Ricorderò, man mano che mi si presenterà l'occasione, quello che dall'A. è stato descritto.

Il metodo da me usato è quello all' orceina, e precisamente mi ha servito l' applicare quella modificazione che io ho proposta al metodo Unna-Taenzer (15). Mi son valso, quando l' ho reputato conveniente, di colorazioni doppie o triple, con carminio (boracico e alluminoso), Hâm-Alaun, con carminio ed eosina, Hâm-Alaun ed eosina.

In questa prima nota io mi riferirò ad alcuni tratti della prima porzione del tubo digerente, e cioè alle: « Labbra, mucosa orale (guancie), faringe, esofago ».

1. — **Labbra.**

Trattatisti ed Autori di memorie speciali sulla intima struttura delle labbra non ci danno notizia alcuna sul tessuto elastico, se si eccettua la seguente frase che sembra stereotipata: « *Il connettivo è provvisto di fibre elastiche.* » Eppure credo che pochi organi ne vadano altrettanto provvisti quanto il labbro, e quanto questo meritino quindi di essere studiati. Prendendo per punto di partenza la faccia interna, si può dire anzitutto che le F. E. vanno gradatamente crescendo in numero ed in volume, man mano che dall' epitelio si procede verso gli strati profondi. Nel connettivo sul quale riposa l'epitelio le F. E., scarse in alcuni punti, sono abbastanza numerose in altri, in genere sottili, brevi, ondulate, non riunite a fasci, con direzione varia, incrociantesi fra loro in tutti i sensi. Non mancano nelle papille ove si presentano coi caratteri testè enunciati; in al-

cune anzi sono numerose ed arrivano fino nella parte più elevata di quelle.

Quando si esaminano superficialmente i preparati si direbbe che molte F. E. penetrano framezzo alle cellule epiteliali; ma allorchè l'esame sia molto attento e si ricorra ad ingrandimenti forti, ci persuadiamo che si tratta solo di una apparenza, e che in realtà cellule epiteliali e F. E. si trovano situate in differenti piani. E si intende come facilmente si possa venir tratti in inganno se il taglio è caduto obliquamente, per quanto in grado minimo, o la sezione è un po' grossa, e vengano così ad essere sfiorati gli elementi degli strati sopra o sottostanti. In quella persuasione poi mi conferma l'avere osservato che si ha quell'apparenza giusta in tratti nei quali in altre fette prossime corrispondono delle papille, talchè è probabile che quello che sembra trovarsi entro l'epitelio spetti invece alle papille sopra o sottostanti che, per l'obliquità del taglio, sono state colpite insieme all'epitelio. Mi son trattenuto su questa particolarità considerando che Legge (14) ha creduto di poter dimostrare in altri organi la penetrazione di fibre elastiche nell'epitelio.

Portandoci un po' più profondamente, le F. E. divengono più numerose, più grosse; qua e là vedonsi raggruppate in fascetti: non si osserva però una direzione prevalente. Man mano che ci si approfonda crescono straordinariamente in numero; molte sono di spessore e lunghezza notevole; mentre alcune decorrono isolate, altre si raggruppano a fasci più o meno ragguardevoli, e si intrecciano in tutte le direzioni, sebbene sia evidente la prevalenza di quelle longitudinali. Tale fitto reticolo si continua fino a che si incontrano i muscoli. È notevole il rapporto intimo che le F. E. contraggono colle voluminosissime ghiandole giacenti in questo strato di connettivo. Fasci lunghissimi di fibre assai grosse decorrono nell'intervallo fra lobulo e lobulo; inoltre ciascun tubulo ghiandolare e i dutti escretori vengono strettamente avvolti da F. E. più sottili. Questo intimo rapporto fra tessuto elastico e ghiandole, già da me era stato messo in evidenza nella trachea di molti vertebrati (16).

Venendo a parlare dello strato muscolare, dirò come lunghi e grossi fasci si veggono decorrere fra i fascetti terziarii;

altri più sottili fra i fascetti secondarii e primarii, incrociando in generale la direzione delle fibre muscolari. Tra i più lunghi ve ne hanno taluni che attraversano, dall'indietro all'innanzi, tutto lo strato muscolare. Infine alcune F. E. isolate o a piccoli fascetti scorrono fra fibra e fibra muscolare, in gran parte parallelamente ad esse. Questa descrizione concorda con quella data da Martinotti (18) per i muscoli del tronco, delle estremità, della lingua, ecc.

Oltrepassati i muscoli troviamo da prima un intreccio di F. E. coi medesimi caratteri di quello veduto alla faccia interna dei muscoli stessi, non potendosi però osservare una prevalente direzione longitudinale delle fibre. Noto come da questo intreccio, come anche da quello della faccia interna, prendono origine molti dei fasci più lunghi che vedemmo attraversare i muscoli. Si trova poi un reticolo fittissimo di F. E. grosse, talune addirittura nastriformi, così stipate e intrigate fra loro da formare uno strato, in taluni tratti spesso circa 1 millimetro, che può considerarsi resultare quasi esclusivamente di tessuto elastico. Esso arriva fin sotto l'epitelio della faccia esterna, in alcuni tratti in intimo contatto con gli strati più profondi di quello, mentre in altri ne resta diviso da una strisciarella di connettivo lasso. In genere più vicino all'epitelio il reticolo è fatto da F. E. più sottili e meno fitte. Delle papille alcune contengono F. E. fino nella parte più elevata, fibre che seguono il più spesso la lunghezza della papilla stessa. I bulbi e le radici dei peli sono strettamente circondati dal reticolo.

Come si vede la disposizione è ben diversa nella faccia esterna ed in quella interna. Si domanda: come avviene il passaggio dall'una all'altra?

Ricordo a questo punto che da Klein furono nel labbro distinte 3 zone: *una esterna* che comprende la pelle e che si arresta ove comincia il colorito roseo; *una zona di transizione* che comprende tutta la parte rosea delle labbra visibile quando queste sono a contatto; da questo punto comincia la *zona interna* o mucosa propriamente detta. Orbene alla 1ª zona, *zona esterna* di Klein, corrisponde quel reticolo fittissimo descritto alla faccia esterna e che termina proprio al limite colla *zona di transizione*.

Il fatto apparisce evidente anche esaminando il preparato con una semplice lente d' ingrandimento. Da quel punto il reticolo va via via facendosi meno fitto, sebbene lo sia notevolmente più che nella faccia interna, finchè, al limite indicato da Klein fra *zona di transizione* ed *interna*, incomincia la disposizione descritta nella faccia ultima ricordata. Voglio far rilevare come nella *zona di transizione*, soprattutto le papille meritano speciale riguardo, poichè sono letteralmente gremite di F. E. fino nella loro parte più elevata: infine assai meno che nella zona interna è spiccata la differenza nel numero e nel volume delle F. E. fra gli strati superficiali e quelli più profondi, e anzi in alcuni tratti le cose si invertono, soprattutto per quel che riguarda il numero.

Tutto quello che ho scritto si riferisce alla porzione media del labbro inferiore di adulto. Aggiungerò che le sezioni più istruttive sono state quelle sagittali. Nel neonato la disposizione è essenzialmente identica. Vi si nota la ricchezza straordinaria di tessuto elastico; sono ben evidenti le 3 zone; in quella interna è molto spiccata la differenza nel numero e volume delle F. E. fra gli strati superficiali ed i profondi: in quella esterna il reticolo sottoepiteliale è meno fitto che nell' adulto, e ciò soprattutto in rapporto colla notevole sottigliezza delle fibre, mentre altrove ve ne hanno abbastanza grosse.

Nel labbro superiore di adulto poche sono le differenze che meritino di essere rilevate. Nella zona esterna, a costituire quel fittissimo reticolo che sta al disotto dell' epitelio, non prendono parte, almeno di regola, fibre così grosse, nastriformi, come osservammo nel labbro inferiore. Nella zona interna quasi nessuna differenza fra gli strati più superficiali ed i profondi per riguardo al numero; spesso neanche si può apprezzare una diversità di grossezza, se si eccettuano gli strati più vicini ai muscoli. Nulla nella zona di transizione.

Infine nel labbro superiore di neonato si può dire, in tesi generale, che l' elemento elastico è più scarso che nel labbro inferiore: soprattutto il reticolo della zona esterna è meno spesso, meno fitto e costituito in maggioranza da fibre sottili, longitudinali, mentre nella zona di transizione predominano evidentemente quelle trasversali. Non è facile dire se questo stesso

fatto si verifichi nel labbro superiore di adulto, poichè per essere il reticolo fittissimo, difficile ne riesce lo studio.

2. — Mucosa orale.

La mucosa buccale che si trova in corrispondenza delle guancie nell'adulto non differisce molto da quella che riveste la faccia interna del labbro.

Anche in questo caso gli strati più superficiali sono i più poveri di fibre elastiche. Ivi queste si presentano isolate, alcune longitudinali, altre trasversali, altre oblique, in gran maggioranza sottili, talune di una sottigliezza estrema, in generale brevi. Anche le papille ne contengono delle sottilissime, brevi e dirette, il più spesso secondo la lunghezza di quelle.

Allontanandoci dalla superficie le F. E. crescono gradatamente di numero e si incrociano in tutte le direzioni, senza che possa rilevarsi la prevalenza verso una qualsiasi. Se ne trovano di tutte le dimensioni: fibre brevissime e sottili molto si intersecano con altre lunghe e grosse, sebbene anche le più voluminose non raggiungano le proporzioni di quelle che si osservano nella zona interna del labbro inferiore di adulto. Nelle parti più superficiali sono quasi sempre isolate o in piccoli fascetti; soltanto in vicinanza dei muscoli raggiungono le massime dimensioni e si raggruppano in fasci più o meno considerevoli. Fasci straordinariamente spessi e fitti di grosse e lunghe fibre si vedono qua e là, in alcune sezioni, portarsi più o meno obliquamente dai muscoli verso l'epitelio, brevi taluni, lunghissimi altri tanto da attraversare tutto lo strato di connettivo che, fra le due parti testè ricordate, è interposto.

La descrizione fatta non concorda con quella breve che ne dà Kölliker (12) secondo il quale nella mucosa buccale le F. E., grosse e numerose, formerebbero reti intricatissime nello strato mucoso fino in vicinanza dell'epitelio, mentre nella sottomucosa sarebbero più scarse e sottili. Ora dai miei preparati apparirebbe precisamente il contrario. Nei muscoli la disposizione è quale fu descritta nelle labbra.

Nel neonato l'elemento elastico scarseggia. Gli strati superficiali contengono appena qua e là qualche fibrilla sottilissima, tanto che a un esame non molto attento facilmente sfugge. Solo in vicinanza dei muscoli le fibre si fanno più grosse e un po' più numerose; sono dirette in tutti i sensi, ed ora isolate, ora a piccoli fascetti. Non si scorge traccia di quei fasci che abbiamo veduto nell' adulto portarsi dai muscoli verso l'epitelio; soltanto si nota che nel connettivo ove le fibre sono molto scarse, queste hanno in gran parte la direzione ora rammentata. Noto come abbondanti si trovino nei muscoli ove si comportano nel modo solito.

3. — Faringe.

Ho esaminato di quest'organo un tratto abbastanza lungo tolto dalla parte media della parete posteriore e nel quale ho praticato sezioni trasversali.

Per comodo di descrizione prendo il punto di partenza dal limite fra connettivo sottomucoso e muscoli. Trovasi quivi un fascio di F. E. non molto grosse, ma lunghe e così stipate da costituire un largo nastro che apparentemente si direbbe una membrana elastica. Il fascio, che ha direzione trasversale, pur descrivendo delle ondulazioni più o meno marcate, si mantiene sulla stessa linea, e può seguirsi per tutta la larghezza della sezione. Non dappertutto esso ha le stesse dimensioni, ma, assai sottile in alcuni tratti, si presenta altrove molto spesso. Le fibre che lo compongono in molti punti sono trasversali, in altri formano un reticolo, talvolta così fitto ed intrigato che ne riesce impossibile lo studio. Nel connettivo che è compreso fra questo fascio e l'epitelio non si ha una disposizione caratteristica. In generale si può dire che l' elemento elastico non è molto abbondante. Delle fibre alcune sono assai sottili, altre assai grosse, senza raggiungere i due estremi: le più sono di media grossezza. In gran maggioranza hanno decorso ondulato, trasversale, e, per lo più isolate, si vedono in taluni punti raggruppate in fascetti piccoli paralleli a quel grosso fascio dapprima descritto ed alla superficie libera dell' epitelio. Questa ultima particolarità, cioè

la presenza di F. E. numerose, ondulate, parallele fra loro ed alla superficie libera della mucosa, è stata osservata da Martinotti (18) nel tessuto sottomucoso di molti organi, fra i quali la faringe. Aggiungerò che le fibre sono più fitte in alcuni tratti, meno in altri; non mi è sembrato esistere una differenza degna di nota fra gli strati superficiali e quelli più profondi. Colle doppie colorazioni si vedono sottili fibrille in immediato contatto con gli elementi più profondi dell'epitelio. Infine trovansi costantemente fibre isolate, con direzione varia, nelle papille, fino nelle parti loro più elevate. Per le ghiandole valga quello che dissi per le labbra.

Nello strato muscolare si osservano ora uno ora due altri fasci di F. E. che per volume, direzione, ecc. si rassomigliano perfettamente al primo illustrato. Da tutti questi fasci poi si dipartono qua e là, ad angolo più o meno acuto, altri fascetti più sottili che si insinuano fra i fasci muscolari. Finalmente, oltre le solite F. E. che corrono nell'intervallo fra fibra e fibra muscolare, seguendone il decorso, altre se ne vedono isolate, talune di una sottigliezza estrema, altre abbastanza grosse, ora brevi, ora molto lunghe, decorrere tortuose, incrociando in vario senso le fibre muscolari medesime. Ritengo essere quei 3 grossi fasci descritti una dipendenza della aponeurosi della faringe, che sarebbe quindi costituita esclusivamente o quasi da tessuto elastico. Ugualmente costituito, da quello che abbiamo veduto, risulta il perimisio tanto esterno che interno.

Al di fuori dei muscoli sta un reticolo, che qua è fittissimo e costituito da F. E. molto grosse, là è più rado e consta di fibre più sottili. Aggiungerò che le fibre si incrociano in tutte le direzioni.

Nel neonato mentre è soprattutto ben sviluppato il fascio elastico nel limite fra muscoli e connettivo sottomucoso, in quest' ultimo le F. E. mancano in molti tratti; soltanto qua e là notasi qualche fascetto con direzione varia. Però, dove sono ghiandole, si ha costantemente un fascio di fibre in gran parte trasversali fra ghiandole ed epitelio; esso manda propaggini che attraversano le ghiandole stesse, e che si perdono nel grosso fascio elastico sopra ricordato.

4. — Esofago.

Spiccatissima in quest'organo la maggior ricchezza in tessuto elastico degli strati profondi rispetto a quelli superficiali. Di regola abbiamo una striscia di connettivo, subito al disotto dell'epitelio, nel quale le F. E. sono estremamente scarse, e, in certi tratti, mancano del tutto. Però ho detto di regola; se infatti è vero che nella più gran parte lo strato di connettivo poco o punto provvisto di F. E. sia assai largo, in qualche punto si vede ridotto ad una striscia sottile, talchè allora numerose fibre giungono pressochè in contatto degli strati profondi dell'epitelio. Riguardo alle particolarità che in questo strato più superficiale le F. E. presentano, dirò che ve ne hanno delle sottilissime e di quelle abbastanza grosse con tutte le gradazioni intermedie; brevi alcune, assai lunghe altre; isolate ed a distanza notevole le une dalle altre, ove sono molto scarse; intrecciate in vario modo fra loro ove sono più fitte, quasi mai si raggruppano per costituire dei fasci.

Nel sottostante connettivo le F. E. sono molto fitte. Se ne scorgono di tutte le dimensioni: delle sottili e delle molto grosse; brevi e lunghissime, ondulate o no, dirette in tutti i sensi senza che si possa notarne uno predominante: in gran parte isolate, alcune riunite in fasci che in genere non sono nè molto densi, nè molto lunghi e che non hanno direzione costante. Noterò che vi hanno alcuni tratti di questo strato nei quali il reticolo è più fitto, altri nei quali è meno, ed ugualmente in una zona vedesi predominare una data direzione, ed in altra una diversa, senza però una regola determinata.

Voglio accennare che nella *muscolaris mucosae* assai numerose sono le F. E. che, in gran maggioranza isolate, decorrono fra i fascetti di fibre muscolari liscie longitudinali, parallelamente ad essi.

Per quanto riguarda i muscoli striati ritroviamo una disposizione ben diversa da quella osservata nella faringe. Nell'esofago ora si passa dallo strato costituito da connettivo a quello nel quale stanno i muscoli insensibilmente, senza linea

di limitazione; altrove vedonsi fasci di fibre circolari che separano l'uno dagli altri. Framezzo ai muscoli stanno i soliti fasci lunghi, ora tenui, ora straordinariamente grossi, che il più spesso seguono il decorso delle fibre muscolari, mentre altri ne incrociano la direzione circoscrivendo fasci primarii, secondarii, ecc.

Nelle parti più basse dell'esofago, quando a quelli striati subentrano i muscoli lisci, troviamo quasi costantemente un fascetto elastico, in genere non molto denso, che divide il connettivo dalle fibre muscolari circolari: un fascio molto più conspicuo e continuo di F. E. circolari divide quelle dallo strato esterno di fibre muscolari longitudinali. Da esso si diparte ad intervalli grandissimi qualche fascetto secondario che, attraversando lo strato muscolare interno, si getta nel fascetto prima ricordato. Invece numerosissimi fasci si portano verso la fibrosa, incrociando la direzione delle fibre muscolari esterne: i fasci alla lor volta emettono fascetti secondarii e terziarii, sempre colla stessa direzione, e che si anastomizzano fra loro. Molti raggiungono la fibrosa e si perdono in un fitto reticolo elastico ivi esistente. Infine numerose F. E. di solito sottili, brevi, ondulate e isolate, decorrono framezzo alle fibre muscolari liscie delle quali, in maggioranza, seguono la direzione.

Due parole sull'esofago del neonato. Nel connettivo che sta sotto all'epitelio, in molti tratti le F. E. mancano; in altri se ne posson vedere alcune qua e là, sottilissime, brevi, isolate, lievemente ondulate. Divengono relativamente più abbondanti negli strati profondi, ma si conservano di una gran sottigliezza, ed ora isolate, ora a ciuffetti, in genere non ondulate, incrociano in tutti i sensi le F. muscolari liscie. Fra i muscoli striati abbondano; sono abbastanza grosse e costituiscono fasci che si comportano come nell'adulto.

***

Termino questa prima nota senza alcuna considerazione generale, riserbandomi di far ciò quando numerosi saranno gli organi che avrò attentamente studiato, e mi sarà quindi possibile stabilire dei raffronti.

Firenze, 25 settembre 1896.

BIBLIOGRAFIA.

1. Bowles R. L., Observations upon the Mammalian Pharynx, etc. (The Journal of Anatomy, vol. 23, N. S.; vol. 3, July 1889, S. 606-616.)
2. Brunn A., Verdaungsorgane. (Ergeb. d. Anat. u. Entwickelungsgesch., Bd. 3 (1893-1894), T. 1, Bd. 4, pag. 78-101.)
3. Cruveilhier J, Traité d'Anatomie descriptive. — Paris, 1874.
4. Debierre, Traité élémentaire d'Anatomie de l'homme. — Paris, 1890.
5. Ellenberger, Ein Beitrag zur Lehre von der Lage und Function der Schlundrinne der Wiederkäuer. (A wiss. u. prakt. Tierheilk., Bd. 21, H. 1, pag. 62-77.)
6. Frey H., Traité d'Histologie et d'Histochimie. — Paris, 1877.
7. Frenzel, Beiträge zur vergleichenden Physiologie und Histologie der Verdauung. (Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt. 1892, S. 81-114.)
8. Gegenbaur C., Traité d'Anatomie humaine. — Paris, 1889.
9. Henle, Anatomie des Menschen. — Braunschweig, 1873.
10. Hyrtl, Istituzione di Anatomia dell'uomo. — Napoli.
11. Krause, Allgemeine u. mikroscopische Anatomie. — Hannover, 1876.
12. Kölliker A., Éléments d'Histologie humaine. — Paris, 1856.
13. Laimer, Beitrag zur Anatomie des Mastdarm. (Wiener Med. Jahrb. 1884 in Jahresbericht v. Virchow, 18 Jahrg. Berlin, 1884.)
14. Legge, Sulla distribuzione topografica delle fibre elastiche nell'apparecchio digerente. — Estr. di pag. 8. Roma, 1896. (Con tavole.)
15. Livini F., Di una modificazione al metodo Unna-Taenzer per la colorazione delle fibre elastiche: nota. — Estr. di pag. 3 dal Monitore zoolog. ital., an. 7, n, 2. Firenze, 1896.
16. —— Intorno alla struttura della trachea. (Ricerche d'Istologia comparata): nota riassuntiva. — Estr. di pag. 27 d. Monitore zoolog. ital., an. 7. Firenze, 1896.
17. Lothes, Beiträge zur Anatomie und Physiologie des Schlundkopfes von Schweine. (Berliner tierärztliche Wochenschrift, Jahrg. 7, n. 8, S. 58-59 in Jahresbericht über die Forts. d. Anat. u. Phys. v. Hoffmann u. Schwalbe. Leipzig, 1889.)
18. Martinotti C., Della reazione delle fibre elastiche coll'uso del nitrato d'argento e dei resultati ottenuti. (Giorn. d. R. Accad. di Medicina di Torino, an. 51, n. 7, pag. 367-377. Torino, 1888.)

19. MAUCLAIRE, Notes anatomiques et pathologiques sur le pharynx. (Bull. d. la Soc. Anat. de Paris, an. 57, ser. 5, tom. 6, 1892, S. 179-182.)
20. MOROSOW, Anatomie des Oesophagus und Beitrag zur Lehre von der carcinomatösen Verengerung, ecc. (Inaug.-Dissert. St. Petersburg, 1887. (Russisch.) in Jahresbericht über die Forts. d. Anat. u. Phys. v. Hoffmann u. Schwalbe. Leipzig, 1888.)
21. NEUSTATTER O., Uèber den Lippensaum beim Menschen, seinen Bau, seine Entwickelung und seine Bedeutung. (Jenaische Z. Naturwissensch., Bd. 29, N. F., Bd. 22 (1894), H. 2, pag. 345-390. Jena, 1895.)
22. POIRIER, Traité d'Anatomie humaine. — Paris, 1895.
23. ROBIN, Note sur la muqueuse de la voute du pharynx. (Journal de l'Anat., 1869, pag. 235.)
24. ROMITI G., Trattato di Anatomia dell' uomo. — Edit. F. Vallardi.
25. RUBELI, Ueber den Oesophagus des Menschen und verschiedener Hausthiere. — Berne, 1889.
26. SAPPEY, Trattato di Anatomia descrittiva. — Napoli, 1882.
27. SCHENK, Elementi di Istologia normale dell' uomo. — Edit. Vallardi.
28. STÖHR, Istituzione di Istologia e di Anatomia microscopica dell'uomo. — Edit. V. Pasquale. Napoli, 1887.
29. STRAHL H., Beiträge zur Kenntniss des Oesophagus. (Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt., 1889, S. 177-195.)
30. TESTUT, Trattato di Anatomia umana. — Torino, 1896.
31. TOLDT, Lehrbuch der Gewebelehre. — Stuttgart, 1884.
32. WALDEYER W., Beitrag zur normalen und vergleichenden Anatomie des Pharynges, etc. (Sitzb. d. Berl. Akad., 1886, in Jahresbericht über die Forts. d. Anat. u. Phys. v. Hoffmann u. Schwalbe. Leipzig, 1887.)
33. WERTHEIMER, De la structure du bord libre de la lèvre au divers âges. — (Arch. général de Médicine, 1883, pag. 39.)
34. ZANDER, Beitrag zur Kenntniss d. Schlundkopfes d. Wiederkäuer. (In Jahresbericht über die Forts. d. Anat. u. Phys. v. Hoffmann u. Schwalbe. Leipzig, 1891.)

Istituto d'Igiene della R. Università di Roma.

SULLA PRETESA TOSSICITÀ DEGLI ENZIMI

PEL

DOTT. CLAUDIO FERMI

Libero docente.

Con diversi lavori eseguiti sotto la direzione del prof. Filehne, Hildebrandt, (¹) d'accordo in ciò con Béchamp e Balters, Nencki e Sahli, Bergmann ed Angerer, Roussyecc tentò di dimostrare la tossicità della pepsina, chimosina, invertina, diastasi, emulsina e mirosina.

Come osservai in altri miei lavori, (²) prima di ascrivere ad una sostanza una data azione, è necessario che la medesima si trovi in istato di completa purezza o almeno che si conosca l'azione delle sostanze che l'accompagnano, sia unite, sia separate. A questo non badarono gli autori sunnominati.

Gli enzimi, che venivano iniettati a forti dosi nelle vene, erano mescolati ad altre sostanze e non erano sterili.

Le ricerche da me istituite colla pepsina, tripsina, ptialina, diastasi ed emulsina sterilizzate a 130° C. e sempre attive, mi diedero risultati negativi; gli animali sopportarono senza alcun disturbo dosi molto più forti (1-2 gr. al giorno per una settimana) di quelle usate nelle loro ricerche dagli autori

(¹) Hildebrandt, *Virchow's Archiv*, vol. 171, pag. 1 e vol. 131, pag. 5.

(²) C. Fermi und Pernossi, *Ueber Enzyme.* (Zeitschrift für Hygiene, vol. XVIII, 1894. — C. Fermi, *Archiv für Hygiene*, vol. XIV, 1892. — C. Fermi und Pernossi, *Ueber das Tetanusgift.* (Zeitschrift für Hygiene, vol. XVI, pag. 385.)

suddetti. Al contrario gli animali di controllo iniettati cogli stessi enzimi non sterilizzati (ciò vale sopratutto per i preparati di tripsina, ricchissimi in microrganismi) morirono di infezione dopo pochi giorni.

In un lavoro recentemente apparso, il dott. Kionka, libero docente, sotto la direzione del prof. Filehne, riprende la questione, riportando alcune esperienze intraprese allo scopo di dimostrare questa pretesa tossicità. Senza riassumere, per brevità, il lavoro, mi limiterò a poche osservazioni sul medesimo.

1° L'A. scrive che io ho limitato le mie esperienze alla sola tripsina. Ciò è per lo meno strano, perchè come risulta dai miei lavori io esperimentai con cinque enzimi diversi, cioè colla pepsina, tripsina, ptialina, diastasi ed emulsina, astenendomi appositamente dall'inversina saccaromicetica perchè appartenente agli enzimi microbici, e non facile a isolarsi dalle pirotossine e piroproteine che l'accompagnano.

L'A. invece tenta di dimostrare la tossicità degli enzimi, sperimentando soltanto sull'inversina, il meno adatto fra gli enzimi conosciuti.

2° Come preparò questo enzima? Prese del comune lievito di birra, contenente, come si sa, proteine e tossine saccaromicetiche pirogene, microbi e loro prodotti, residui della fermentazione dell'orzo, ecc.; lo espose prima all'aria ([1]) e dopo averlo disseccato a 100° C lo ridisciolse in acqua tenendolo per 12 ore a 40° C, e facilitando così il rigoglioso sviluppo dei germi, che trovando, come è noto, nell'infuso di lievito un substrato favorevolissimo, vi potevano produrre tossine e pirotossine.

Invece poi di precipitare cinque o sei volte con alcool e ridisciogliere con acqua, come fa il Barth, si accontentò di eseguire questa operazione una volta sola, ottenendo così invece di un preparato di inversina, un impuro infuso di lievito.

Sciolse una forte quantità del suo preparato in 10 cm³ di soluzione sodica al 0,6 °/₀, lo lasciò tutta la notte a sè (!) e poi filtrò ed iniettò.

([1]) H. Kionka, *Deutsche Medec. Wochenschrift*, 17 settembre 1896.

3° La sterilizzazione venne tentata coll' aggiunta del toluolo, del sublimato o mediante la filtrazione. Completamente non riuscì che col toluolo; ma l'autore all'atto dell'iniezione ed avanti di eseguire le culture piatte non allontanò il detto disinfettante.

Il sublimato venne usato al 1: 10000 ed allontanato dopo mezz'ora col solfato di ammonio; questo disinfettante poco adatto in presenza di sostanze colloidi, con cui dà composti inattivi o nella forte diluizione usata e pel breve tempo in cui agì, diede il risultato che l'A. doveva aspettarsi, cioè non sterilizzò. Sulle culture piatte (fatte in gelatina solamente [!]) si svilupparono 20 colonie circa per cadauna.

Le esperienze istituite con questi due disinfettanti potrebbero forse dimostrare il contrario di quello che si era prefisso l'A.; il fatto che il toluolo distruggendo l'azione pirogena conservò l'inversina, e che il sublimato invece distruggendo quasi completamente questa conservò l'azione pirogena, ci conduce facilmente a pensare che il potere pirogeno non sia dovuto all'inversina ma ad un'altra sostanza mescolata alla medesima.

La sterilizzazione tentata mercè la filtrazione col *ballonfilter*, lasciò passare le sostanze pirogene e l'inversina, ma pur troppo, anche dei batteri; questa è l'esperienza sulla quale specialmente l'A. basa la sua conclusione, che è la seguente:
« L'inversina, e verosimilmente anche gli altri fermenti idro-
« litici, esercitano un'azione tossica e pirogena sugli animali
« a sangue caldo; questa non dipende da batteri che vengano
« iniettati insieme ai medesimi, ma si esplica anche quando i
« batteri vengano uccisi o allontanati mediante la disinfezione
« o la sterilizzazione. »

Senza dilungarmi troppo, ecco i fatti e le considerazioni che, secondo me, parlano contro i risultati riferiti dal dott. Kionka e dai precedenti sperimentatori e quindi contro la pretesa tossicità degli enzimi in generale.

1° *Si sperimentò con enzimi mescolati a sostanze di azione ignota, non sterili, e si dimenticò l'esame batteriologico degli animali ammalati o morti.*

2° *Il dott. Kionka basò la sua conclusione non su ricerche istituite su energici enzimi animali, quali la pepsina, la tripsina, ecc., ma sopra un infuso di lievito contenente proteine e pirotossine saccaromicetiche, prodotti della fermentazione dell'orzo, e microbi coi loro prodotti. Dalle ricerche del Centanni infatti risulta che anche da culture di comuni saprofiti si possono estrarre sostanze pirogene e marantiche, che egli chiamò pirotossine.*

3° *È tanto diversa l'azione e la composizione dei preparati di inversina da quella dei preparati di pepsina, tripsina, emulsina, diastasi, ecc., che dall'azione del primo non si può dedurre, come vorrebbe il dott. Kionka, l'azione degli altri.*

4° *Volendo decidere sulla pretesa tossicità dell'inversina, gli autori avrebbero dovuto procedere nel seguente modo:*

a) *sperimentare con culture non solo di blastomiceti, ma anche di ifomiceti* (penicillium glaucum aspergillus niger) *sopra soluzioni sterilizzate di saccarosio puro e di sali minerali;*

b) *ripetere le esperienze, come controprova, con substrati sui quali non viene segregata l'inversina o con culture di altri blasto- ed ifomiceti non secernenti il detto enzima.*

5° *Dal solo innalzamento di temperatura non si può concludere senz'altro per la tossicità, essendo l'aumento di temperatura una reazione dell'organismo che si ha pure iniettando siero normale, succo di carne, cloruro sodico, ecc.*

6° *Potrei nominare circa un centinaio di specie diverse di microrganismi, i quali ci danno culture contenenti uno, due e persino tre enzimi (proteolitico, diastatico ed inversivo) e che non sono tossiche, viceversa potrei nominare oltre novanta altre specie di microrganismi che ci danno culture tossiche, ma prive di enzimi. Abbiamo, per esempio, il* B. rosso *di Kiel, che produce l'enzima proteolitico e l'inversivo*, il B. subtilis *ed il* B. ramosus *che producono il proteolitico ed il diastatico ed infine il* B. megaterium *che produce tre enzimi nella stessa cultura, cioè il proteolitico, il diastatico e l'inversivo, e nessuna delle culture di questi microrganismi è dotata di potere tossico.*

7° *Per la natura dell'azione specifica della ptialina, della diastasi, dell'inversina, dell'emulsina e della mirôsina, non si può comprendere un'azione tossica di questi enzimi sulle cellule e sugli albuminoidi dell'organismo. Gli enzimi proteolitici, i soli da cui detta azione*

si potrebbe aspettare, sono, come risulta da mie ricerche, affatto inattivi sulla cellula viva (¹).

8° *Inoltre la ptialina, la pepsina e tutti gli enzimi pancreatici. ed enterici circolano fisiologicamente nell'organismo, si accumulano anche nel medesimo aderendo agli albuminoidi e venendo così lentamente eliminati, e tuttavia un'autointossicazione da enzimi non è ancora stata osservata.*

9° *La pepsina, la tripsina, la ptialina, la diastasi e l'emulsina sterilizzate, ma attive, iniettate ad animali alla dose di 1-2 gr.* pro die *per una settimana non produssero intossicazione di sorta.*

Roma, 5 ottobre 1896.

(¹) C. Fermi, *Die Wirkung der proteolitische Enzyme auf die lebendige Zelle als Grund einer Theorie ueber die selbstverdauung.* (Centralblatt für Physiologie, 1895, fasc. 21.)

A PROPOSITO DEI CASI DI PSITTACOSI

DA ME OSSERVATI

RISPOSTA

DEL DOTT. T. PALAMIDESSI

AL LAVORO DEL DOTT. MALENCHINI [1]

Nel numero 22 del *Policlinico*, anno decorso, pubblicai alcune mie ricerche batteriologiche fatte sul sangue e sull'orina di individui affetti da una malattia, che clinicamente ed anatomopatologicamente doveva ascriversi ad una forma di *psittacosi*, convalidando la diagnosi l'essere morto nella casa un pappagallo e l'essersi poi presentati molti altri casi simili nella vicina Prato, dopo l'importazione di cocorite avvenuta in quella stessa epoca. Le conclusioni che credei allora essere autorizzato a trarre da tali ricerche erano che, nonostante mi mancasse la prova della ricerca nei pappagalli, il germe da me isolato da tali malati si doveva considerare identico a quello dal Nocard ricavato dalle ali di pappagalli morti lungo la traversata, perchè i caratteri morfologici e biologici corrispondevano a quelli dal Nocard assegnati al suo germe. Tali mie conclusioni non corrispondevano a quelle che il dott. Malenchini aveva tratto da una serie di ricerche su polmoniti atipiche, a cui assegnò la qualifica di maligne per il loro carattere di essere molto gravi e di attaccare contemporaneamente o quasi più membri di una stessa famiglia. Ora il Malenchini ha studiato un caso simile a quello da me osservato e che aveva tutti i caratteri della

(1) Vedi *Sperimentale,* fasc. III, Sezione biologica.

psittacosi, ma torna a concludere, come nel lavoro precedente, che cioè nonostante la forma clinica ed anatomica diversa da quella della tipica polmonite cruppale, l'unico agente infettivo riscontratovi è il pneumococco del Fränkel, ed invece di essere soddisfatto di questa occasione, che gli ha permesso di confermare i resultati precedenti, attacca il mio lavoro nella sua base, quasi che non possa fare accettare le sue conclusioni senza prima distruggere le mie. Alieno da promuovere e fomentare polemiche di ogni genere, mi sarei astenuto ben volentieri dal rispondere alle osservazioni del dott. Malenchini, se le divergenze fossero state sulla interpretazione da assegnare a certi fatti, sull'attendibilità di altri o sul dare la preferenza ad uno piuttostochè ad un altro metodo di ricerca, ma siccome tutte le obiezioni partono e mettono a capo nello stesso tempo a voler provare che se io ho isolato uno stesso germe dall'orina e dal sangue dei malati, la causa deve cercarsi nella disinfezione *imperfetta* ed *insufficiente* del dito e del meato urinario che non è riuscita a distruggere germi depostivi accidentalmente e da me poi raccolti e fatti passare nientemeno *ad ogni costo* per identici a quelli del Nocard, così non credo di poter passare sotto silenzio questo addebito, convinto che con questo non si interpreterà che io pretenda di imporre a forza la mia opinione, sapendo quanto ancora abbia da studiare e da imparare nei lavori di batteriologia.

Vorrei qui riassumere tutte le obiezioni che il dott. Malenchini fa al mio lavoro e rispondervi poi nel modo migliore, più breve e più chiaro che io possa, ma riconosco che dovrei tornare a ripeterle ad una ad una ogni qualvolta io volessi fare le mie difese e preferisco riportarle separatamente e così pure rispondervi.

Nel mio lavoro ho scritto che il germe (da me isolato) nelle gocce pendenti è dotato di un movimento attivissimo di oscillazione, però i movimenti di traslazione, se si compiono, sono molto limitati. Qui abbiamo, dice il dott. Malenchini, un linguaggio improprio, e siccome il batterio del Nocard è estremamente mobile, *sembra differire dal suo* (mio) *anche in questo carattere.* Ma lasciando a parte l'improprietà di linguaggio che

lo stesso Canestrini usa parlando dei bacilli del colera asiatico (dice: hanno i bacilli un movimento di rotazione intorno a se stessi ed un altro di traslazione) domando al dott. Malenchini se ammette o non ammette nel germe in questione il movimento vivace che io ho segnalato? eppure mettendo il microrganismo, situato nelle gocce pendenti, in condizioni letali per la sua vita, ho parlato di arresto di tali movimenti, per cui non voglio pensare che si insista a crederli come moti browniani, giacchè in questo caso mi verrebbe in soccorso il Bordoni Uffreduzzi, quando dice che per quanto sia l'osservatore abituato a studiare i movimenti di corpi viventi od inorganici nelle gocce pendenti « con tutto ciò la sicurezza che in un dato « caso si tratti veramente di movimenti propri non si può « avere se non colla prova di controllo, che consiste nel ve- « dere se il movimento cessa, producendo ad arte condizioni « incompatibili colla vita di questi esseri, quale sarebbe il trat- « tamento cogli acidi e così via », ed infatti fu acidificando la goccia pendente che cessavano quei movimenti.

Le mie ricerche avevano avuto come punto di partenza l'esame dell'orina e del sangue di 3 malati, e mentre che dall'orina e dal sangue di due potei isolare il germe in questione che uccideva i conigli, dalle culture del sangue del terzo ricavai invece lo stafilococco piogeno aureo. Ora mi si domanda: perchè fra i diversi microrganismi esistenti nell'orina dare valore piuttosto ad un batterio che ad altri? e perchè nelle culture del sangue dare importanza ad un'unica colonia nata in un caso, piuttostochè allo stafilococco piogeno aureo abbondante nell'altro? Trattandosi di un'infezione che al momento del mio esame in vita non era ben determinata, feci dall'orina culture su placche ed innesti nei consueti animali da esperimento: se avessi scelto a casaccio fra le colonie sviluppatesi nelle culture una colonia qualunque che più mi fosse riuscita simpatica per l'aspetto, la forma, il colorito, il dott. Malenchini avrebbe certo ragione di domandarmi da quali criteri scientifici la mia scelta fu diretta, ma scelsi le colonie che si assomigliavano a quelle del batterio ricavato dal sangue e dagli organi del coniglio che morì per l'innesto di brodo ove era stata messa qualche goccia

dell'orina come era stata raccolta dal malato e non poteva certo preferire le altre di bacilli corti, tozzi, che l'esame stesso faceva con probabilità ritenere per accidentali od affatto innocui, come dimostrò l'esperimento sul coniglio: le cavie poi innestate ugualmente non morirono coll'innesto dell'orina, per cui è da ritenersi che non vi esistessero germi patogeni per questi animali.

Rispetto alle colonie ricavate dal sangue, domanderei quale ragione doveva farmi preferire in un'infezione così diversa dalle ordinarie le colonie dello stafilococco piogeno a quella del batterio che io studiai? la diffusione dei piogeni, la loro azione ben definita sull'organismo dovevano farmi considerare la presenza di tali germi come accidentale e veramente conseguenza dell'*imperfetta* ed *insufficiente* disinfezione del dito, che il dottore Malenchini mi rimprovera invece nel caso dell'altro malato; non fosse stato altro che la curiosità scientifica di vedere con quale germe aveva a che fare, mi sarei deciso a preferire lo studio della colonia piccola, unica a quella dello stafilococco, quando poi si aggiunga la circostanza che tale colonia per i suoi caratteri fisici corrispondeva a quelle ricavate dal sangue del coniglio e dall'orina. Che cosa si direbbe se io rimproverassi ad uno sperimentatore di dare importanza nell'espettorato di un tisico o di un pneumonico solo al bacillo del Koch od al diplococco del Fränkel, quando ve ne sono in numero eccessivo tanti altri diversi di forma e di dimensioni? e nelle feci di un tifoso o di un coleroso perchè dare la preferenza ai bacilli del tifo o del colera quando moltissimi altri si imporrebbero per il numero? Però mi si può obiettare che in questi casi abbiamo germi di ormai riconosciuta ed incontestata azione specifica, per cui possiamo tralasciare gli altri di nessuna o di secondaria importanza; e nel caso mio non aveva di fronte due germi, di cui uno ben conosciuto per il suo potere patogeno e per la sua diffusione e l'altro a me sconosciuto? E questa obiezione pare al mio egregio contradittore che non fosse sufficiente ad infirmare il mio lavoro, che ne fa una più grave in apparenza e destinata a produrre un grande effetto per chi legge. Si sa quanto i microrganismi siano diffusi nel mondo esteriore: do-

vunque se ne trovano e talora non basta usare tutte le cautele possibili perchè un momento solo è sufficiente a mandare a monte un'osservazione; si sa quanto siano resistenti i germi deposti sulla cute umana e quindi occorrono molte cautele per disinfettarla e molta insistenza. « Ora non so, così scrive il « dott. Malenchini, se il Palamidessi insistesse in questa anti« sepsi del dito e benchè egli dichiari di avere usato le ne« cessarie cautele, io mi permetto di dubitarne, appoggiandomi « su due ragioni. Egli infatti avrebbe trovato nel sangue di « due individui malati della stessa infezione due microrgani« smi diversi, in uno cioè il suo diplococco anzi diplobacillo, « nell'altro lo stafilococco piogeno aureo: d'altra parte poi, lo « afferma egli stesso, le culture ottenute dall'orina furono tutte « impure. L'antisepsi del meato urinario fu quindi senza dub« bio imperfetta ed insufficente fu pure, come è probabile, « quella del dito, perchè non potrebbe essere egli accaduto che « il microrganismo scoperto dal Palamidessi si trovasse nel « momento delle sue ricerche sul meato urinario, ospite come « tanti altri bacilli di quella località ed accidentalmente anche « sulla pelle del dito, da cui fu raccolto il sangue per l'esame « batteriologico? » Prima di rispondere a tali obiezioni, occorre dire qualche parola riguardo al giudizio che il dott. Malenchini dà sul batterio da me isolato, perchè da questo dipende appunto tutto il lato debole della questione che ha voluto sollevare. A qual germe il dott. Malenchini vuole assomigliare il mio microrganismo per poi spiegare questa grande diffusione in natura? « Questo diplococco così somigliante, Egli scrive, al bacillo « del Pasteur, » ed oltre, « è ben noto che il bacillo del colera dei « polli viene ritenuto identico al cuniculicida scoperto da Gaffky « nelle acque del Panke e verosimilmente assai sparso in natu« ra. Non sarebbe dunque improbabile che in questo batterio « od in un altro simile per caratteri e per proprietà ed appar« tenente a quel gruppo di batteri che determinano una setti« cemia emorragica negli animali sia il Palamidessi per caso « imbattuto nelle sue ricerche e l'abbia ritenuto appunto per « le proprietà patogene, che esso dimostrava, l'agente specifico « della psittacosi. » Che il batterio da me isolato appartenga

al gruppo di quelli capaci di dare setticemia emorragica, lo ho ammesso implicitamente nel mio lavoro, quando ho cercato per le proprietà sopratutto patogene di differenziarlo dagli altri (colera dei polli, delle anitre, della selvaggina, setticemia dei conigli e dei suini), e quello che allora scrissi sarebbe sufficiente a farlo distinguere dal colera dei polli e dalla setticemia dei conigli (che è lo stesso), ma ripeterò solo che carattere principale differenziale era di non dare nelle cavie ascessi come il batterio del colera dei polli. Dunque si vuol far credere che il batterio dei miei malati è uguale al b. cuniculicida, che Gaffky e Kock isolarono iniettendo sotto la cute a conigli dell'acqua del fiume Panke, cioè di un fiume che raccoglie moltissime immondizie ed ha un'acqua putrida e puzzolente. Questi osservatori isolarono il predetto bacillo dopo molti tentativi fatti con infusi di carne putrida o di sangue putrido e nel punto di innesto ebbero una estesa suppurazione putrida, del cellulare sottocutaneo con infiltramenti circostanti di liquido icoroso, fetido. Questo reperto certo io mai osservai neppure nei primi animali inoculati e spero che non mi si vorrà ritenere tanto trascurato nella tecnica da avere inoculato liquidi divenuti putridi. Io dunque sarei stato tanto fortunato o disgraziato di trovare contemporaneamente nel sangue e nell'orina di due malati, situati in ambienti diversi, assistiti da personale diverso, in giorni differenti, questo germe, mentre Gaffky e Koch che studiavano appositamente gli agenti infettivi della setticemia dei conigli, avrebbero dovuto fare tanti tentativi, studiare i liquidi più putridi, variare i mezzi e ciò per non ottenere che due sole volte una setticemia nei conigli (una volta coll'acqua del fiume Panke, e la seconda con salamoia putrefatta) e che, si noti bene, non riuscirono più a produrre. Questo intanto starebbe a provare che il *verosimilmente assai sparso in natura* è asserzione non fondata su dati di fatto, e mi duole che il dott. Malenchini non si sia prima assicurato se la letteratura in proposito dava a lui diritto di fare tale supposizione, che doveva poi appoggiare a convalidare l'obiezione più grave e più seria che Egli crede fare al mio lavoro, cioè l'obiezione che doveva avere la garanzia scientifica che essendo il germe in questione molto diffuso, veniva a

rendersi possibile e molto probabile il trovare accidentalmente il germe contemporaneamente nell'un sito e nell'altro; resterebbe pur sempre la stranezza della contemporanea impurità per uno stesso germe. E quello che ho detto e dirò vale anche per il caso che si voglia fare la supposizione che si tratti di *un altro batterio simile per caratteri e per proprietà, appartenente a quel gruppo di batteri che determinano una setticemia emorragica negli animali*, perchè avendosi germi così simili da confonderli e molto diffusi, gli autori ne avrebbero in qualche modo incontrati nelle loro ricerche successive e ne sarebbe stato ugualmente tenuto il debito conto nella letteratura apposita. È dunque così diffuso il bacillo cuniculicida di Gaffky od altro simile? Basterebbe ad escluderlo il fatto citato che Koch e Gaffky non riuscirono che solo due volte nei loro esperimenti a produrre la setticemia, e Novak dice a proposito che vi *riuscirono dopo molti tentativi*. Ma osserviamo quello che dicono gli autori dei manuali che ho tra mano. Flügge parla di altre numerose ricerche (oltre quelle coll'acqua del fiume Panke) per isolare dal materiale putrefatto lo stesso agente morboso che non riuscirono, cosicchè la sua diffusione pare che abbia limiti di luogo e di tempo; Bordoni Uffreduzzi dice: non pare che si trovino sparsi dappertutto, poichè nelle sostanze in putrefazione non furono mai trovati ed il Koch li rinvenne soltanto in quell'acqua di Berlino ed una volta nel liquido di salamoia putrefatto; ed il Lustig nella sua *Diagnostica dei batteri dell'acqua* scrive che trovato da Koch in un'acqua di fiume sporca, sembra generalmente poco diffuso. Gli autori poi che vollero studiare casi di setticemia simili non lo trovarono. Così Daremberg produsse una setticemia nei conigli innestando loro dei prodotti tubercolari presi da cadaveri durante i grandi caldi e leggermente putrefatti: morivano dopo 24–40 ore per inoculazione sottocutanea, peritoneale, nelle vene o per trapanazione con infiltramenti sanguigni nel punto di innesto, con ecchimosi muscolari, emorragie sull'intestino, con infarti nel fegato. L'agente infettivo era un micrococco ovoide, non fluidificante la gelatina, disposto qualche volta a catena, in zooglea, a 2 o a 4: dopo 17 giorni diveniva meno virulento e le seconde inoculazioni furono

meno attive delle prime: coagulava il latte. Ed anche Gaffky e Paak trovarono in un avvelenamento per carne e salsicce bacilli che costituivano colonie simili a quelle del tifo, che uccidevano conigli, cavie, topi ed altri animali. Volli pure io inoculare dei conigli sotto la cute con infuso di carne tenuto a putrefare da 48 ore a 4 giorni e o non ebbi alcun resultato o quando il coniglio morì, trovai un infiltramento nel punto della inoculazione di liquido sieropurulento, fetido e nel sangue erano dei batteri fluidificanti la gelatina, e mai ebbi microrganismi che si avvicinassero per i loro caratteri morfologici e per le loro proprietà a quello da me isolato dai malati C. Da tutto questo mi pare che resti dimostrata la poca diffusione del bacillo cuniculicida o di altro simile nel mondo esteriore e quindi viene a mancare la base scientifica a sostenere che se l'inquinamento vi fu, doveva appunto avvenire per tale bacillo contemporaneamente esistente in due luoghi (dito e meato urinario di individui diversi). Riguardo poi ad *impurità insinuatesi nelle successive ricerche di laboratorio*, basterà solo che io dichiari che la morte degli animali di esperimento avvenne subito, dopo la prima iniezione o di orina o di cultura del sangue, che non avevo lavorato nè lavoravo allora col batterio del colera dei polli e che infezioni accidentali mai si sono verificate nei miei animali sia in corso di esperimento sia in quelli sani di deposito; ciò a togliere di mezzo altre supposizioni che infirmino i miei resultati precedenti.

Ed ora poche parole a giustificazione ed a spiegazione di quello che il dott. Malenchini scrive a mio riguardo sulle culture favoritemi dal dott. Silvestrini. « È in verità strano, scrive, « che il dott. Palamidessi tanto poco insista anzi sorvoli su « questi resultati (del dott. Silvestrini) che pure furono frutto « di ricerche compiute in condizioni identiche alle sue e desta « meraviglia che egli, ad esempio, non dica neppure se provò « a trapiantare il microrganismo in gelatina o se ne fece la co« lorazione col metodo di Gram. Eppure queste ricerche avreb« bero dovuto interessarlo ed è inverosimile non le abbia fatte, « ed allora perchè non parlarne? » In questo ultimo periodo si vuole forse gentilmente far credere che avendo io fatto le ri-

cerche e queste non essendo conformi alle mie conclusioni, le abbia taciute? No; così io non faccio: sbaglierò, avrò sbagliato, se vuole il dott. Malenchini, ma innanzi tutto la sincerità: e nè sono restato in dubbio dal dire che nei due malati che vidi a Prato non trovai coll'esame del sangue germi speciali, nè dal pappagallo che ebbi vivo dalla stessa Prato potei ricavare il virus, eppure, se voleva agire poco lealmente, poteva dire di avere trovato nell'uno (che non presentò neppure le lesioni descritte in questa infezione) e negli altri i germi che mi facevano comodo e nessuno mi poteva controllare. Ebbi dal dottore Silvestrini le culture, quando il mio lavoro era già scritto; ne provai il potere patogeno sui conigli, sulle cavie e su passere: nulla ebbi di speciale; le culture si presentavano ormai un po' essiccate e qualunque resultato avessi ottenuto dall'innesto su gelatina o coi metodi di colorazione, qual valore poteva avere se il virus era attenuato (o pneumococco del Fränkel od altro germe che fosse) non dando la morte agli animali di esperimento, datando da due mesi ed essendo su agar già in parte essiccato? Dovevo su resultati di ricerche fatte in tali condizioni concludere qualche cosa?

L'unica osservazione che riconosco dal dott. Malenchini ben fatta è sull'errore del nome: ho creduto in principio delle mie ricerche trattarsi del diplococco dal Fränkel, l'ho trovato poi diverso nelle ulteriori esperienze, ho riconosciuto che l'apparenza di diplococco dipendeva dal colorarsi più intensamente agli estremi, ma ormai il nome era già dato ed ho senza accorgermene seguitato a chiamare diplococco quello che non è che un batterio o bacillo, non diplobacillo, come vuole lo stesso Malenchini, ma spero che questo nome improprio non mi si voglia elevare a carattere differenziale da quello del Nocard, al quale assomiglia per tutte le altre sue proprietà. E non trovo poi giustificata la insistenza del dott. Malenchini nel cercare da principio del suo lavoro differenze fra il germe da me isolato ed il batterio del Nocard, quando poi nella fine non riconosce un'importanza decisiva a questo batterio per le condizioni sfavorevolissime in cui il Nocard fu costretto ad operare e perchè non fu mai trovato nell'uomo e nemmeno in altri pappagalli malati

della stessa malattia. Senza volere difendere l'opera del Nocard, che non ne ha bisogno, devo notare che tutte le obiezioni sollevate al mio lavoro non reggono per le ricerche del Nocard: ottenne dalle ali di pappagalli morti lungo la traversata *culture pure* del germe da lui studiato.

Le conclusioni poi del mio lavoro hanno avuto in questi giorni la conferma per le ricerche di Gilbert e Fournier, i quali hanno trovato ed isolato dal sangue e dagli organi di un pappagallo, morto in alcuni giorni, un bacillo perfettamente corrispondente a quello descritto dal Nocard, e mentre nell'espettorato di un malato di psittacosi non trovarono che il pneumocco, dal sangue del cuore di una donna poterono isolare il batterio del Nocard stesso. Viene così a mancare anche la ragione che adduceva il dott. Malenchini, che cioè simile batterio non era stato più trovato in pappagalli morti ed in malati di psittacosi.

In questo nuovo lavoro il dott. Malenchini riferisce fatti che osservati nelle ricerche precedenti crede bene ora dopo le mie conclusioni di far conoscere perchè stanno in opposizione a quello che io scrissi. Il dott. Malenchini dice che dopo eseguite le autopsie dei tre cadaveri appartenenti ai C, fece innesto di sangue e di polmone del 2' caso sotto la pelle di un gallo e fece mangiare del polmone alterato del 3° caso ad altro pollo, e che questi due polli nulla presentarono di anormale: vivevano sani dopo 3 mesi. Tali innesti furono appunto fatti nell'interesse di risolvere la questione se la malattia era stata trasmessa dai pappagalli. Ora a mia volta devo notare con dispiacere che nella comunicazione delle prime ricerche fatta dallo stesso Malenchini nella seduta del 18 febbraio 1895 alla Società Medico-fisica fiorentina non fece mai cenno di tali esperimenti, benchè dovessero anche allora essere interessanti per escludere questa trasmissione, e diveniva quasi obbligatorio il ricordarli quando il prof. Banti nella discussione accennò ad un possibile nesso fra il comparire di tali infezioni e l'importazione dall'America di pappagalli a Genova, ove si erano verificati casi simili e quando il dott. Loriga pure parlò dei vari casi di malattia successi a Prato e giunse a domandare se pure accettando le conclusioni del dott. Malenchini si potessero spiegare come doppie infezio-

ni, tanto la coincidenza di tali malattie e la comparsa dei pappagalli malati era netta. Erano allora già scorsi 4 mesi dalla morte dei C. ed i polli dovevano essere già stati uccisi dal Malenchini col secondo innesto del bacillo del colera dei polli: dunque questi esperimenti dovevano considerarsi come esauriti e la morte non essendo avvenuta nei primi giorni, doveva negare la presenza almeno del batterio del Nocard a menochè non fossero allora sconosciuti al dott. Malenchini i resultati delle ricerche di questo scienziato. E questa mancanza si trova pure nel suo lavoro, benchè vi sia un punto ove stavano tanto bene citati i resultati negativi avuti dal Malenchini per combattere il valore attribuito al batterio del Nocard, quando cioè a questo fine cita il caso di un colombo che innestato a Parigi da Hallè con polmone di un pappagallo morto di malattia, fuggì al quinto giorno senza avere presentato segni di malattia: in questo caso non vi era la sicurezza che il colombo non potesse essere morto, sebbene cosa poco probabile, tardivamente, mentre i polli del Malenchini erano di certo sopravvissuti stando bene 3 mesi e dovevano perciò avere maggior valore.

Ed ho finito. Non per far polemica ho scritto queste mie difese, ma sibbene perchè ho creduto necessario di giustificare le mie ricerche e di sostenere le conclusioni del mio lavoro di fronte alle obiezioni mossemi dal collega Malenchini. Io voglio sperare che nuove ricerche spassionate vengano a risolvere la questione ormai tanto dibattuta e siccome io non voglio imporre ad ogni costo la mia opinione, sarò lieto e soddisfatto se le mie osservazioni vi troveranno la conferma; altrimenti se dimostreranno che sono stato tratto a quelle conclusioni da false interpretazioni, accetterò l'ammaestramento senza rancore da chiunque esso mi venga, perchè preferisco di essere corretto di un errore piuttostochè insistervi, ossequente al detto *errando discitur*.

Istituto di Anatomia Patologica di Firenze. Direttore prof. G. Banti.

POCHE PAROLE DI REPLICA

ALLA RISPOSTA DEL DOTT. PALAMIDESSI

SULL' ARGOMENTO DELLA PSITTACOSI.

DOTT. FERDINANDO MALENCHINI

1° Aiuto.

Alle critiche, che il dott. Palamidessi mi muove, io mi limiterò ad opporre le seguenti brevi risposte:

1° Se nel mio lavoro sulla psittacosi criticai, e credo con ragione, le ricerche del dott. Palamidessi, ciò accadde perchè egli ed io avevamo studiato sopra i medesimi casi, egli sopra poche goccie di sangue tolte in vita da un dito, io sul sangue e sui visceri provenienti dalle necroscopie degli stessi individui.

Il dott. Palamidessi ha creduto di ottenere un batterio per lo meno molto analogo a quello del colera dei polli, io ho trovato solo il diplococco lanceolato capsulato. Dunque o egli o io eravamo in errore. Però io ho avuto uguali risultati, cioè il reperto del medesimo diplococco, anche studiando altri casi di psittacosi, manifestatisi in epoche differenti e non osservati dal dott. Palamidessi. Risultati identici ai miei ottenne anche il dott. Silvestrini assistente in questa Clinica medica.

2° Il dott. Palamidessi, chiamando anche in soccorso il dott. Bordoni Uffreduzzi, si affatica a dimostrare che il movimento oscillatorio proprio di certi batteri non è un movimento browniano. Ciò gli concederò tanto più volentieri in quanto tale è stata sempre la mia opinione. Questo non toglie però che il movimento oscillatorio da lui osservato nel suo batterio non sia molto differente dal movimento vivacissimo descritto dal Nocard nei bacilli da lui trovati nelle ali di pappagalli. Ciò

soltanto ho detto nel mio lavoro, e ciò torno anche oggi a ripetere.

3° Che il batterio descritto dal dott. Palamidessi sia identico a quello isolato prima dal Nocard, ed ora da Gilbert e Fournier, mi sembra tuttora insostenibile. Il primo infatti è un batterio piccolo, di forma tale da potere esser confuso coi diplococchi, ed ha soltanto un movimento oscillatorio; l'altro è un bacillo tozzo, ad estremità arrotondate, dotato di movimenti vivacissimi di traslazione. Le culture del primo rassomigliano a quelle del colera dei polli, le culture del secondo a quelle del bacillo di Eberth; il primo non si sviluppa sulle patate, il secondo vi cresce rigogliosamente. Tali differenze mi sembrano sufficenti a dimostrare come il batterio del Palamidessi e quello del Fournier sieno due microrganismi diversi. Di questi caratteri del bacillo del Gilbert e Fournier potei io stesso accertarmi mediante una cultura favoritami dal prof. Banti. Anche i pochi esperimenti sugli animali che ho potuto sin ad ora eseguire, tendono a far viepiù risaltare la differenza tra questo bacillo e il batterio del Palamidessi: infatti, esso mi si è dimostrato patogeno specialmente per la cavia, meno per il coniglio, innocuo per il pollo, mentre il batterio del Palamidessi è più patogeno per il coniglio e per il pollo, pochissimo per la cavia. Aggiungerò che non intendo ora entrare affatto nel merito della comunicazione fatta dai signori Gilbert e Fournier.

4° Il dott. Palamidessi mi rimprovera di avere scritto che il bacillo del colera dei polli è verosimilmente assai sparso in natura. Farò notare a questo proposito che le epidemie di setticemia emorragica sono comunissime in certi animali, e che esse sono prodotte da batteri tanto affini a quello del colera dei polli da giustificare forse la opinione di coloro, che li credono varietà di una medesima specie. Ma o siano varietà o specie di uno stesso genere, la frequenza delle epidemie rende supponibile che tali batteri non debbano esser rari in natura. Ma poi, non si potrà forse supporre verosimilmente assai sparso in natura quel bacillo del colera dei polli che il Gamaleja ha trovato ospite costante degli escrementi dei piccioni?

5° Sulla tecnica seguita dal dott. Palamidessi per esaminare

il sangue dei malati di psittacosi, mi permetto di mantenere i già fatti apprezzamenti, perchè sono convinto che in tali delicatissime ricerche non basti dal polpastrello di un dito poco lavato prendere una goccia di sangue coll' ansa di platino e fare culture. E che il mio apprezzamento sia giusto lo prova il dottor Palamidessi stesso nel suo lavoro, poichè dall' esame del sangue eseguito in due malati ebbe due risultati diversi, e non trovò mai il diplococco lanceolato, che poco dopo io ottenni dal sangue e dai visceri degli stessi individui.

6° Una sola osservazione del dott. Palamidessi riconosco giusta, ed è quella che egli mi fa, domandandomi perchè nella comunicazione all' Accademia Medico-Fisica, e nel mio lavoro, io non parlai degli esperimenti eseguiti sui polli. Fu la mia una dimenticanza. Gli esperimenti erano riusciti negativi, ed i polli inoculati col sangue e col polmone degli individui morti per psittacosi non presentarono nessun fatto morboso. Ciò mi indusse a non parlarne, e ciò credo accada a molti ricercatori quando si tratti di esperienze negative. Nè potevo supporre allora l' importanza che esse avrebbero poi acquistato per dimostrare inesatte le ricerche del dott. Palamidessi. Conosciute queste ricerche, ripensai a quelle esperienze, che erano state da me eseguite con la cooperazione dei miei colleghi di Laboratorio, ed allora le comunicai.

Con ciò dichiaro chiusa per conto mio la polemica; ritornerò sull' argomento soltanto se mi si presenteranno nuovi casi di psittacosi.

INDICE

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile*.

LO SPERIMENTALE

—

ARCHIVIO DI BIOLOGIA

LO SPERIMENTALE

ARCHIVIO DI BIOLOGIA

Anno LI

FIRENZE
STABILIMENTO TIPOGRAFICO FIORENTINO
Via San Gallo, 33

1897

Istituto anatomo-patologico della R. Università di Siena.
O. Barbacci, Direttore.

SULLE ALTERAZIONI ISTOLOGICHE

DI ALCUNI VISCERI ADDOMINALI

NEL CORSO DELLA PERITONITE DA PERFORAZIONE

DEL

PROF. OTTONE BARBACCI

In un mio precedente lavoro [1], dopo aver minutamente studiato dal lato anatomico e sperimentale l'etiologia e la patogenesi della peritonite da perforazione, io scendeva alla conclusione che in questo processo morboso si tratta essenzialmente di una intensa intossicazione dell'organismo, prendente punto di partenza dai complessi processi che si svolgono nel cavo della sierosa addominale e che sono la causa efficiente non tanto della morte quanto de' sintomi generali più spiccati che accompagnano l'evoluzione della malattia.

La peritonite, io sosteneva, è una lesione banale, che non ha nulla di speciale in sè come processo anatomico: la base anatomica dell' intera sintomatologia morbosa si deve ricercare nelle lesioni istologiche che nei varii visceri lasciano, come impronta del loro passaggio nel circolo, i prodotti tossici che sono continuamente elaborati nella sierosa peritoneale e da questa riassorbiti.

« Il meccanismo della morte nella peritonite da perfora-
« zione non può interpretarsi quale conseguenza diretta nè della
« pura lesione flogistica locale, nè tanto meno di una setticemia

[1] O. Barbacci, *Sulla etiologia e patogenesi della peritonite da perforazione.* (Lo Sperimentale, anno XLIX, fasc. IV, 1893.)

« da *bacterium coli*: essa è manifestamente l'espressione ultima « di una intensa intossicazione dell'organismo, nella quale en- « trano, come fattori capitali, il riassorbimento de' prodotti « liquidi e gazzosi di origine intestinale da un lato, il riassor- « bimento dei prodotti tossici elaborati dai microrganismi dal- « l'altro. » (L. c., Conclus. 20°.)

E precisando sempre più il campo delle ricerche io aggiungevo: « le lesioni più importanti, quelle che meglio po- « tranno illuminarci sul complesso meccanismo della intossica- « zione generale, non le dovremo ricercare nel peritoneo, ma « in altri visceri, a più nobili funzioni deputati: sarà sopra- « tutto nei grandi emuntorii dell'organismo, nel fegato e nei « reni, che noi dovremo andare alla ricerca di quelle fini alte- « razioni anatomiche che staranno a testimoniare dell'intenso « lavorio morboso che si è ordito nella trama intima di questi « tessuti durante l'evoluzione dell'intero processo morboso per « effetto degli elementi tossici, originatisi nel peritoneo e dalla « corrente sanguigna portati a questi grandi centri di epura- « zione. » (L. c., pag. 116-117.)

Lo studio di queste lesioni era il compito che io mi riserbava per l'avvenire. Avendo a mia disposizione i visceri della maggior parte degli animali sui quali aveva sperimentato, io già da lungo tempo aveva compiuto questo lavoro, ma finora mi era astenuto dal renderne noti i resultati per la mancanza di un adatto materiale anatomico di controllo. Ed invero il solo studio delle lesioni istologiche nei visceri degli animali da esperimento non poteva legittimare alcuna conclusione per rapporto a quello che realmente avviene nella peritonite da perforazione umana, l'esperienza di tutti i giorni largamente ammonendo come cause morbigene identiche siano capaci di risvegliare alterazioni anatomiche disparate a seconda che dispiegano la loro azione su di una o di un'altra specie animale.

I casi di peritonite da perforazione sono tutt'altro che rari a presentarsi al tavolo anatomico: trattandosi però di studiare alterazioni istologiche delicatissime, quali quelle che per il rapido passaggio dei prodotti tossici traverso visceri di

struttura molto complessa e ad elementi facilmente e variamente impressionabili è presumibile si debbano stabilire nel corso della peritonite da perforazione in alcuni organi addominali, bisogna essere estremamente cauti nel riportare le lesioni occasionalmente trovate in un organo alla sola causa morbosa che ha determinato la morte. Perchè ciò possa farsi senza tema di cadere in errori grossolani è mestieri utilizzare in questo studio unicamente quei casi nei quali l'intervento concomitante, e sopratutto da più o meno lungo tempo pregresso di altre cause morbose possa essere in maniera assoluta escluso.

Ora osservazioni anatomiche che rispondano completamente a questi desiderati sono tutt'altro che frequenti ad incontrarsi: di ciò è facile convincersi per poco che si prendano in considerazione le varie circostanze nelle quali si sogliono osservare queste peritoniti. Manifestamente noi non possiamo utilizzare per questo studio i casi così frequenti di peritonite da perforazione, ne' quali la comunicazione tra il lume intestinale e la cavità del peritoneo si stabilisce per effetto di una lesione di continuità del canale digerente, dovuta ad un processo distruttivo che si svolge in modo più o meno acuto o cronico: ciò perchè la malattia che ha determinato queste lesioni suol dispiegare il più di solito contemporamente negli organi parenchimali un'azione nociva, cui si connettono lesioni materiali, che non siamo in grado di poter caso per caso nettamente sceverare da quelle che sono l'appannaggio proprio della sopravvenuta peritonite da perforazione. Rientrano in questa categoria le tanto frequenti peritoniti che si osservano nel corso o nella convalescenza della febbre tifoide, quelle che ben spesso interrompono bruscamente il lento decorrere di una tubercolosi intestinale, quelle infine che si stabiliscono nel decorso di un'ulcera semplice dello stomaco o del duodeno, ovvero di un'ulcera cancerigna di uno qualsiasi dei segmenti sottodiaframmatici del tubo digerente. E nemmeno bene si prestano per lo studio nostro quelle forme di peritoniti che si osservano come conseguenza di un'appendicite o di una delle tante forme di occlusione intestinale: ciò per duplice ragione: e perchè queste peritoniti non sempre sono sotto la dipen-

denza di una vera perforazione intestinale, ma spesso rappresentano il resultato di una semplice propagazione di flogosi dalle pareti dell'intestino alla sierosa: e perchè poi all'accendersi della peritonite precede sempre uno stato morboso grave, nel quale l'intossicazione dell'organismo per il riassorbimento locale dei prodotti della decomposizione intestinale e delle tossine originatesi dal ricco vegetare de' batterii nell'ansa malata si tradisce per sintomi gravissimi prima ancora che entrino in scena i fatti di vera e propria peritonite: difficile perciò se non impossibile all'esame istologico sceverare tra le alterazioni riscontrate ne' singoli visceri quelle che sono sotto la diretta dipendenza del processo peritonitico da quelle che riconoscono per causa determinante la pregressa intossicazione dell'organismo.

A questo poi si aggiunga che degli individui, vittime di tali accidenti, ben spesso nulla sappiamo de' precedenti morbosi prossimi e remoti, stante la rapidità di decorso della malattia e la breve degenza che di solito fanno negli Ospedali, dove non è raro siano portati già agonizzanti. Ultima condizione sfavorovole è l'età non raramente avanzata di questi ammalati, per la quale gli organi parenchimali più importanti — quali il fegato e i reni — sono già preda di alterazioni morbose molto spiccate (per effetto di solito dell'arterio-sclerosi), le quali non solo possono esser causa di confusione nel reperto istologico, ma possono siffattamente modificare la sensibilità degli elementi parenchimali da renderli diversamente impressionabili all'azione di una data causa morbosa.

I casi meglio adatti, tipici, per lo studio che ci occupa sono quelli rappresentati da una peritonite sviluppatasi in seguito alla rottura traumatica di un'ansa intestinale in individui giovani e senza precedenti morbosi nè prossimi, nè remoti. Questi casi hanno tutta la determinatezza di un esperimento di Laboratorio, e sono i soli dal cui studio si può raccogliere il prodotto più puro di osservazioni istologiche, dinanzi alle quali la critica più scrupolosa è costretta a ripiegare le proprie armi. Ora i casi di questo genere sono più che rari, eccezionali.

In attesa sempre di poter portare il mio studio su di uno di questi casi fortunati, mi era finora astenuto dal pubblicare i fatti istologici, per quanto non privi di interesse, da me raccolti collo studio di un abbondante materiale di esperimento. Il caso anatomico da lungo atteso essendo finalmente giunto alla mia osservazione, mi affretto a render noti i frutti del mio studio in proposito all'argomento che forma oggetto del presente lavoro. Che il caso da me studiato soddisfi completamente ai desiderati sopra espressi ne testimonia la breve storia clinica che qui riporto, dovuta alla gentilezza del Direttore della Clinica chirurgica di Siena, prof. Remedi.

G. Marsilio di anni 24, da Ferrara, mozzo di stalla in un circo equestre. La sera del 27 novembre 1895 a ore 9 $^1/_2$ pom., mentre accudiva alle sue mansioni di stalliere, ricevè da un cavallo un calcio nella parte sinistre dell'addome. Risente un dolore acuto nel ventre ed è subito portato allo Spedale e ricoverato nella Clinica Chirurgica.

È un robusto giovane, dalle masse muscolari fortemente sviluppate, in buonissimo stato di nutrizione. Non ha precedenti morbosi nè prossimi nè remoti. Sulla parete anteriore dell'addome non si riscontrano traccie del calcio ricevuto. Persiste acutissimo il dolore interno nel segmento sinistro del ventre. Nel corso della notte non ha vomito. Al mattino la temperatura misura 38° C. In tutto il giorno 28 vomita ripetute volte e non ha alcuna scarica alvina. Si pratica una lavanda intestinale alle ore 15 con resorcina e qualche goccia di acido fenico, che non provoca nessuna deiezione. Verso le 18 dello stesso giorno si amministra un clistere di soluzione borica con olio, seguito da emissione di scarso materiale fecale non fetente. Nessuna traccia di sangue nè nel contenuto stomacale nè nelle feci.

Alle ore 19 la temp. era 38°.6 C., il polso piccolo, celere batteva 110-115 volte al minuto. Respiro affannoso: 27-30 respirazioni al minuto. Ghiaccio a permanenza sull'addome. Il malato rifiuta ogni sorta di alimento.

Alle ore 22 dello stesso giorno 28 notevole peggioramento, con collasso minacciante. Pulsazioni 120, respirazione 35-40: si praticano alternativamente iniezioni eccitanti di etere e di caffeina. Morte alle 2 ant. del giorno 29.

L'autopsia fu da me praticata 28 ore dopo la morte, essendo lo stato di conservazione del cadavere buonissimo, stante il rigore della stagione invernale.

Conformazione scheletrica regolare: forte sviluppo delle masse muscolari; lodevole stato di nutrizione: macchie ipostatiche diffuse nelle parti posteriori del cadavere, estese anche alle parti laterali del tronco e alla regione anteriore del collo e del torace. Ventre uniformemente sollevato con macchie verdognole in corrispondenza delle fosse iliache e della regione ipogastrica. Rigidità cadaverica conservata.

All'apertura dell'addome fuoriesce gaz fetido in quantità: nel cavo addominale si trova una modica quantità di liquido rossastro, fortemente torbido, che si accumula di preferenza nelle parti più declivi. Il peritoneo che riveste la parete anteriore dell'addome presentasi fortemente arrossato, sparso di macchie ecchimotiche e rivestito qua e là di un essudato giallastro sporco, che in singoli punti si addensa in strati piuttosto spessi. Questa lesione peritoneale prevale nei quadranti inferiori del ventre per farsi tanto più leggera quanto più ci si spinge in alto e scomparisce quasi completamente a livello della regione epigastrica. Le anse intestinali sono solo in parte rivestite dal grande omento, arrossato e cosparso qua e là di stracci di essudato. Lo stomaco è notevolmente disteso da gaz: lo sono pure in forte grado le anse intestinali, che presentansi finamente arrossate e agglutinate da un essudato giallastro sporco, il quale spiccatamente prevale in corrispondenza del fianco e della fossa iliaca sinistra. Nè la milza, nè il fegato sporgono dall'arco costale. Altezza del diaframma a destra 5ª costa, a sinistra 4º spazio intercostale.

All'apertura del torace si osserva come il polmone di destra si spinga al di là della linea mediana verso la parte sinistra. L'area cardiaca scoperta è minore del normale. Nelle cavità pleurali, piccola quantità di siero sanguinolento al pari che nella cavità del pericardio. Il polmone destro, libero da aderenze, è piuttusto voluminoso per un modico stato enfisematoso del lobo superiore e medio, specialmente delle parti anteriori. Il parenchima polmonale presenta solo un leggero grado di iperemia nelle parti più alte, mentre posteriormente e inferiormente vi sono segni di ipostasi. A sinistra esistono aderenze antiche a livello delle parti anteriori: il polmone sinistro, di volume presso a poco normale, presenta un leggero grado di enfisema lungo il margine anteriore del lobo superiore: nel parenchima esistono gli stessi fatti notati a destra. Nulla di notevole nelle pleure sì viscerali che parietali, all'ilo polmonale e ne' grossi bronchi tanto di destra che di sinistra.

Il cuore presenta un leggero grado di ipertrofia sopratutto spiccata a livello del ventricolo sinistro. Nell'orecchietta destra si trovano alcuni coaguli sanguigni, mentre le altre cavità sono presso che completamente vuote. Gli orificii e gli apparati valvulari sono tutti quanti integri al pari de' setti. Il miocardio ha consistenza e colorito normale: robusta la parete del ventricolo sinistro: ben sviluppata anche quella del destro. Vasi coronari e origine dell'aorta senza nulla di notevole.

Svolgendo la matassa intestinale a tre metri circa dall'origine del

digiuno in un' ansa del tenue si osserva una soluzione di continuo, di forma irregolare, a margini sfrangiati, situata in corrispondenza del punto opposto all'inserzione mesenteriale, di forma ovalare, col massimo diametro, di circa 2 centimetri, diretto un po'obliquamente all'asse intestinale. Intorno ad essa i fatti di peritonite sono più che altrove spiccati. Quest'ansa, agglutinata con le anse contigue, giace in corrispondenza della fossa iliaca sinistra: dalla soluzione di continuo fuoriesce del contenuto intestinale liquido. I fatti peritonitici sono estesi a tutta la sierosa che riveste la parete posteriore dell'addome con prevalenza però verso le parti inferiori.

La milza è piuttosto voluminosa: misura 16 cent. nel diametro antero-posteriore, 11 nel verticale ed ha 4 cent. di massimo spessore. Sul parenchima, di consistenza normale, poco ricco di succo, si veggono bene le trabecole, senza però che esse appaiano inspessite, e i follicoli di Malpighi leggermente rigonfi.

Il fegato ha volume presso a poco normale: la capsula è in alcuni punti, specie in corrispondenza della parte anteriore e superiore del lobo destro, lievemente iniettata. Nella cistifellea si contiene poca bile giallastra, fluente. Sul taglio del parenchima si osserva una fina marmorizzazione, dovuta all'alternarsi di zone rossastre con zone giallastre: la consistenza è normale.

Il rene destro ha volume normale: la capsula si svolge con facilità, la superficie dell' organo è liscia e levigata. All' esame interno si osserva congestione venosa assai spiccata e fina iniezione di molti vasi della sostanza corticale, la quale presenta un leggiero colorito giallognolo: essa però non è in modo sensibile aumentata di spessore ed è liscia e lucente. Nel rene sinistro i fatti congestizii sono anche più spiccati che a destra: del resto esso presenta gli stessi caratteri dell'altro rene.

La vescica orinaria è piccola, retratta, contiene pochi cmc. di orina torbida e presenta una mucosa arrossata e cosparsa di piccole macchie ecchimotiche.

Nulla di notevole nel pancreas e nelle capsule surrenali. Lo stomaco contiene poco liquido tinto fortemente dalla bile: stracci di muco spalmano la parete: la mucosa non presenta lesioni apprezzabili. Lo stesso avviene pel duodeno. Aperto il resto del canale intestinale a livello del punto già ricordato, si osserva anche dal lato della mucosa una soluzione di continuità della forma e dimensioni sopra notate: la mucosa tutto intorno ad essa presenta un colorito ecchimotico: nelle restanti porzioni dell'intestino nulla di notevole.

Le glandule del mesenterio sono leggermente ingrossate: quelle più vicine all'inserzione intestinale si presentano assai spiccatamente congeste, quelle invece più prossime alla radice del mesenterio hanno aspetto midollare, suculento.

La testa, per espresso desiderio del curante, non è stata aperta.

Diagnosi anatomica. *Peritonite generalizzata per rottura traumatica di un' ansa intestinale.* Modico stato di enfisema polmonale. Iperemia e ipostasi polmonale. Aderenze pleurali a sinistra. Leggiera ipertrofia cardiaca. Tumore splenico di modica intensità con rigonfiamento de'follicoli malpighiani. Incipiente degenerazione grassa del fegato. Stasi renale e lieve grado di nefrite parenchimatosa acuta.

Gli organi sui quali ho ritenuto importante portare lo studio istologico sono stati i reni, il fegato, la milza e le glandule linfatiche mesenteriali. Pezzetti di questi organi sono stati fissati in varii liquidi, alcool assoluto, sublimato, liquido di Müller, liquido di Flemming. Le sezioni ottenute al microtomo, previa inclusione in celloidina, sono state variamente colorate a seconda de' liquidi fissatori e a seconda dei fatti morbosi che più interessava di ricercare: le colorazioni alle quali più frequentemente ho ricorso e che meglio mi hanno servito per lo studio delle lesioni istologiche sono state le doppie colorazioni con l'emateina e l'acido picrico e con la safranina e l'acido cromico (metodo Martinotti). Per la ricerca della degenerazione grassa mi hanno servito i pezzi trattati col liquido di Flemming: per quella de'microrganismi mi sono servito del metodo classico del Löffler e di quello del Gram.

Rene. — Esaminando delle sezioni di rene ad un piccolo ingrandimento colpiscono subito le lesioni profonde di cui è sede la sostanza corticale. Il labirinto del rene sembra come trasformato in una zona necrotica continua, di cui rompono l'uniformità soltanto i glomeruli malpighiani, che si distaccano sul fondo grigio giallastro della preparazione come corpicciuoli rotondeggianti cosparsi di fini punteggiature bluastre (colorazione all'emateina e acido picrico). La sostanza midollare invece si presenta col suo aspetto normale: solo si vedono in essa grossi vasi turgidi di sangue e delle chiazze emorragiche qua e là senza ubicazione ben determinata. Sui confini tra corticale e midollare spiccano le grosse arcate venose ripiene di sangue: nella corticale invece i vasi non si disegnano affatto sul fondo uniforme della sostanza renale: solo se ne scorgono alcuni congesti in corrispondenza del cortex corticis.

Studiando le sezioni a forte ingrandimento i fatti morbosi risaltano ancor meglio nelle loro particolarità. Nel labirinto renale non si riscontra più un tubulo che presenti il suo aspetto normale: i meglio conservati si presentano all'osservazione come canali ripieni di una sostanza finamente granulare, cosparsa di nuclei, che non assumono più affatto la sostanza

colorante o la prendono con una pallidissima sfumatura: i limiti tra i singoli elementi cellulari di rivestimento sono completamente scomparsi. Qualche volta è ancora nettamente riconoscibile il lume del canalicolo renale: il più spesso esso è completamente scomparso e tutta la cavità del canalicolo è ripiena della massa sopra descritta. Nel maggior numero però de' tubuli le alterazioni sono più profonde ancora: di nuclei non si scorge più traccia alcuna o al massimo se ne riconosce qualcuno qua e là più dal suo contorno, che dalla colorazione elettiva che abbia assunto. A riempire il lume del canalicolo si trova o una massa uniforme finamente granulare o una massa pur granulare ma rotta in blocchi di disparatissimo volume e conformazione, ora aderenti alle pareti ora come caduti nel lume del canalicolo stesso. Sono i tubuli contorti quelli che presentano il massimo delle alterazioni: nelle anse di Henle, pur esse profondamente alterate, non è difficile tuttavia riscontrare qua e là delle porzioni ancora bene conservate: esse corrispondono alla porzione sottile dell'ansa, riconoscibile pel suo piccolo calibro e per la forma dell'epitelio che la riveste: anzi scorrendo un numero relativamente grande di preparazioni si incontrano anche di queste porzioni sottili dell'ansa di Henle con caratteri perfettamente normali. Un reperto simile e però del tutto eccezionale: nel maggior numero loro anche queste porzioni di tubuli uriniferi si presentano variamente alterate con gradazioni che scendono dalla necrosi completa del rivestimento epiteliale alla semplice confusione o scomparsa de' limiti cellulari e la minore attitudine della sostanza cromatica del nucleo a fissare i colori. In nessun punto della sostanza corticale si vedono accumuli di leucociti, anche in vicinanza dei punti ove i vasi sembrano più o meno dilatati e ripieni di sangue.

Con queste alterazioni così profonde del labirinto renale fa spiccato contrasto la completa integrità dei glomeruli malpighiani: le anse del glomerulo, presso che costantemente vuote di sangue, si disegnano nettamente le une dalle altre: i loro nuclei sono normali per numero e conformazione; non si scorgono tra le anse leucociti infiltrati. Lo spazio capsulare è vuoto, non contiene nè essudato, nè sangue, nè elementi cellulari desquamati. Il rivestimento epiteliale della capsula presentasi con caratteri normali: la capsula stessa non è nè inspessita nè infiltrata di leucociti.

Una particolarità, già nettamente visibile ad un esame dei preparati a medio ingrandimento, ma che meglio risalta adoperando ingrandimenti molto forti, aveva ripetutamente fermato la mia attenzione già fin dai primi esami fatti. Sebbene non le dessi subito molto valore, ritenendola come la conseguenza di una cattiva tecnica di preparazione, il suo ripetersi nei numerosi preparati che successivamente venivo esaminando, e sopratutto il suo persistere in preparati sottoposti a trattamenti colorativi differenti, svegliò in me il sospetto che in realtà piuttosto che di un errore di tecnica essa fosse l'espressione di una vera e propria alterazione patologica: e

che questa fosse la sua vera significazione potei facilmente convincermene con uno studio più accurato e minuto dei preparati istologici. Ecco prima di tutto di che si tratta: osservando attentamente — specie ad un forte ingrandimento — i preparati si scorgono in corrispondenza di una gran parte, ma non di tutti i tubuli necrotici in gran numero dei granuli rotondi, i quali assumono quali più, quali meno intensamente la sostanza colorante nucleare e sembrano senza alcuna legge sparsi tra il protoplasma degli elementi epiteliali caduti in necrosi: il loro volume è vario: ora piccolissimi come granulazioni protoplasmatiche, ora grossi come un nucleolo di cellula. La prima impressione che mi fecero questi granuli fu che si trattasse di precipitati della sostanza adoperata per colorire le sezioni: dovei però presto ricredermi da questo errore, considerando come essi si presentassero qualunque fosse la sostanza colorante adoperata, come accanto a loro non si vedessero mai precipitati più grossolani, in forma di cumuli, quali non sogliono mai mancare in queste circostanze, e come sopratutto mancassero completamente a livello delle parti ben conservate della sostanza renale, a livello dei glomeruli di Malpighi e della sostanza piramidale, che, come dirò tra breve, è sede di lesioni estremamente leggere. Pensai allora potesse trattarsi di microorganismi e colorai perciò molte sezioni col metodo di Löffler: i granuli si presentarono anche nelle sezioni così trattate, ma anche l'occhio meno esercitato riusciva subito a distinguerli dai veri e proprii microorganismi: pur facendo astrazione dalla variabilità grande del loro volume, carattere che male si accorda con la qualifica di microorganismi, per lo meno di microorganismi di una stessa ed unica specie, basta ad escludere questa ipotesi il fatto che i granuli surricordati prendono con questo trattamento colorativo la stessa sfumatura di colore dei nuclei cellulari, nè mai si tingono con quella intensità che fa a prima giunta riconoscere i microorganismi nei tessuti.

Che significano dunque questi granuli se non sono nè precipitati di colore, nè microorganismi? Un esame accurato e metodico dei preparati dà facilmente la chiave dell'enigma. Già con una superficiale osservazione a forte ingrandimento è facile rilevare come questi granuli non presentino tutti la stessa intensità di colore: alcuni sono più, altri meno intensamente colorati ed approfondando l'esame si vede che la diversa intensità di colorazione non è un fatto accidentale, ma intimamente connesso con la maggiore o minore profondità delle lesioni di cui è sede il tessuto: quanto meno progredite sono le alterazioni necrotiche degli elementi epiteliali di rivestimento e tanto più numerosi e sopratutto più intensamente tinti si presentano questi granuli.

La loro elettività per i colori nucleari fa subito pensare che debbano la loro origine ad una particolare alterazione della sostanza cromatica dei nuclei: uno studio particolareggiato dei preparati dimostra all'evidenza l'attendibilità di questa ipotesi, in quanto sia possibile seguire tutte

le fasi del processo morboso per cui dalla sostanza cromatica dei nuclei si formano queste granulazioni. Osservando attentamente dei canalicoli i cui nuclei sieno ancora ben conservati (prevalentemente porzioni ristrette di anse di Henle) si vede come accanto a nuclei con un reticolo cromatico regolare, fortemente tinto dalla sostanza colorante, ne esistano altri in cui la membrana nucleare è completamente scomparsa e al luogo del nucleo si scorge un cumulo rotondeggiante di questi granuli: tale apparenza è assai spiccata a livello di quei canalicoli in cui si osservano già fatti non dubbi di incipiente necrosi degli elementi epiteliali. Passando poi all'esame di canalicoli sempre più alterati, si vedono dapprima i granuli allontanarsi tra loro pur conservando nell'insieme l'aggruppamento caratteristico a cumulo rotondeggiante situato verso le parti centrali della cellula, poi dissociarsi completamente e diffondersi in maniera più o meno uniforme nella massa protoplasmatica. Mentre questi fatti si compiono avvengono altresì delle modificazioni più o meno profonde nello stato di affinità di questi granuli per le sostanze coloranti nucleari: esse assumono il colore con intensità sempre minore, per modo che in ultimo sembrano appena sfumati. A livello poi dei canalicoli ove le alterazioni necrotiche del rivestimento epiteliale sono più chè altrove spiccate e profonde, questi granuli mancano completamente.

I fatti suddescritti indicano manifestamente che si tratta di un processo di cariorexi e sopratutto di cariolisi, cui soggiacciono i nuclei delle cellule epiteliali dei canalicoli renali, processo che conduce alla completa desintegrazione del nucleo stesso, procedente di pari passo con la necrosi dell'elemento cellulare.

La sostanza piramidale non presenta lesioni degne di nota se se ne eccettua un forte sovrempimento dei vasi, per isole qua e là, e la presenza di piccoli focolai emorragici, già visibili ad un piccolo ingrandimento, ma che meglio risaltano nelle loro particolarità visti ad un ingrandimento maggiore. Non si tratta di veri e proprii focolai apoplettici con distruzione più o meno completa degli elementi della località in cui avviene la emorragia, ma piuttosto di infiltrazioni sanguigne tra gli elementi del rene ben conservati e nettamente riconoscibili.

In nessun punto della sostanza renale si osservano traccie di degenerazione grassa: il fatto risalta chiaramente tanto nei preparati induriti in liquido di Flemming, che in preparati provedienti da pezzenti trattati con l'acido osmico.

Nelle sezioni sottoposte al trattamento colorativo di Löffler si scorgono qua e là dei cumuli di piccoli bacilli situati nel lume dei vasi. In alcune sezioni però si osservano altresì dei focolai bacillari più o meno grossi, formati da bacilli molto corti ad estremi arrotondati, fittamente stipati gli uni sugli altri. Essi risiedono nel connettivo intertubulare, i cui spazii sono più o meno fortemente allargati per divaricazione e compressione dei canalicoli circostanti: in questi non penetrano mai i bacilli,

insieme ai quali si trovano sempre nel tessuto abbondanti globuli rossi del sangue.

Intorno ai cumuli bacillari manca costantemente ogni segno di reazione flogistica del tessuto. Osservando delle sezioni in serie si vede come questi cumuli si facciano sempre in vicinanza di una vena, la cui parete è stata in qualche punto rotta dalla forte distensione del sangue, onde ne è resultata un'emorragia interstiziale: questo spiega molto bene il fatto del trovarsi i bacilli quasi ovunque commisti a globuli rossi. La sede più costante di questi cumuli bacillari è sui limiti tra sostanza corticale e midollare a ridosso di un arco venoso: il focolaio però si estende quasi sempre prevalentemente dal lato della sostanza corticale. L'intima connessione di questi cumuli di bacilli con le lesioni delle pareti vasali, il riscontrarsi dei bacilli stessi entro il lume di molti vasi, la loro mancanza costante a livello dei canalicoli veri e propri, per quanto più o meno profondamente alterati, finalmente — carattere di somma importanza — la mancanza assoluta di ogni reazione flogistica del tessuto intorno ai cumuli bacillari, son tutti caratteri che parlano per una invasione postmortale del tessuto per parte di questi microorganismi, ai quali per conseguenza non possiamo dare alcun valore nella produzione delle lesioni di cui è sede la sostanza renale. La loro forma, il decolorarsi completamente col metodo di Gram, fan ritenere che con tutta probabilità si tratti di bacilli del colon, entrati in circolo durante il periodo agonico o anche immediatamente dopo avvenuta la morte e moltiplicatisi nei punti ove le condizioni del tessuto rendevano agevole il loro rigoglioso sviluppo (focolai emorragici). E che l'invasione dell'intero organismo per parte del *bacterium coli* sia un fatto che si stabilisce con grande rapidità nei cadaveri dei morti per peritonite da perforazione lo dimostrano i miei studi batteriologici su queste forme morbose (loc. cit.), nelle quali io ho potuto sempre coltivare questo batterio dal sangue del cuore e dai varii visceri anche in cadaveri freschissimi e nelle migliori condizioni di conservazione: del resto che così debba essere è anche facile comprenderlo quando si ripensi al rigoglioso pullulare del *bacterium coli* nella sierosa peritoneale già durante l'evoluzione del processo morboso.

Fegato. — Si osservano qua e là nel parenchima epatico delle piccole zone, nelle quali gli elementi presentano un protoplasma estremamente chiaro, pur conservando tuttavia la loro granulazione normale: il fatto spicca tanto più in quanto tali zone essendo molto piccole si può nettamente comparare sotto uno stesso campo microscopico la diversa colorazione del protoplasma negli elementi che le compongono e in quelli immediatamente confinanti e con aspetto normale. In queste zone, che non hanno una ubicazione ben determinata, ma che si trovano ora verso il centro, ora alla periferia, ora nella porzione mediana dell'acino epatico, gli elementi cellulari mostrano dei limiti poco netti, quasi le masse protoplasmatiche singole tendessero a fondersi le une colle altre in un tutto

unico. I nuclei però anche in queste zone si colorano bene al pari che negli altri distretti del parenchima epatico. L'unico fatto degno di nota a proposito del nucleo delle cellule epatiche si è l'incontrarsi assai frequente di elementi provvisti di due o più nuclei e di elementi aventi un grosso nucleo, del volume due o tre volte maggiore di un nucleo normale e più ricco assai di questo in sostanza cromatica.

I capillari epatici si presentano dilatati ad isole qua e là, ora più, ora meno estese, ma senza nessuna connessione diretta, quanto alla sede loro, con la struttura dell'acino. Esaminando attentamente il sistema capillare si veggono assai spesso delle cellule endoteliali rigonfie e talune volte desquamate nel lume vasale: mai però ho riscontrato in queste cellule, al pari che nelle cellule epatiche, segni più o meno manifesti di proliferazione nucleare.

Molti setti interlobulari si presentano con caratteri perfettamente normali: scorrendo però molti preparati è facile incontrarsi in setti nei quali è evidente un'infiltrazione parvicellulare or più or meno spiccata.

Nei preparati trattati coll'acido osmico si vedono nel maggior numero degli elementi epatici delle finissime goccioline nere. Si trovano poi delle zone più o meno estese, a conformazione variata, nelle quali gli elementi contengono grosse goccie nere che spesso si embricano in modo le une sulle altre da mascherare completamente l'elemento che le contiene. Sono vere zone di degenerazione grassa, le quali non occupano per rispetto ai lobuli epatici una posizione costante: prevalgono alla periferia, ma se ne trovano anche al centro e nelle parti mediane.

Milza. — In relazione con l'età del soggetto, il numero dei follicoli malpighiani che ancora si trovano nel parenchima splenico è piuttosto scarso: questi follicoli però presentano un aumento evidente di volume, sono rigonfi. Alcuni si presentano all'osservazione come un nodo di infiltrazione parvicellulare: sono quei follicoli che io ho altrove chiamati *uniformemente infiltrati*: [1] altri presentano una zona centrale più o meno amplia, formata da elementi diversi, cellule linfoidi proprie del follicolo, leucociti, cellule connettive, e un alone periferico fatto da piccoli elementi rotondi fittamente stipati gli uni sugli altri: sono follicoli ad *area centrale mista*. Com'è noto questo vario aspetto dei follicoli corrisponde a delle modalità che rientrano perfettamente nell'ordine dei fatti normali. Anormale invece — nel senso di essere l'espressione di un fatto morboso — è il rigonfiamento di questi follicoli, occasionato dall'abbondante infiltrazione di piccoli elementi rotondi nel corpo follicolare stesso. Ma i fatti

---

[1] Per queste ed altre particolarità relative alla struttura de'follicoli di Malpighi vedi il mio lavoro: *Sulle fini alterazioni istologiche della milza, del fegato e delle glandule linfatiche nel corso dell' injezione difterica.* (Lo Sperimentale, anno 1895, fasc. IV e Atti dell'Accademia de' Fisiocritici di Siena, vol. VIII, serie IV.)

d'indole patologica non si limitano a questo: in alcuni follicol si vedono nettamente al centro delle cellule d'aspetto epitelioide, le quali non appartengono certamente agli elementi normali del follicolo malpighiano. Di più si osservano in molti follicoli degli elementi col nucleo trasformato in un blocco omogeneo, splendente, che si tinge intensamente con le sostanze coloranti nucleari: qualche volta questi nuclei assumono delle conformazioni che ricordano assai da vicino delle figure cariocinetiche, senza però che esista quella regolare disposizione delle anse cromatiche che è propria delle diverse fasi del movimento proliferativo nucleare. Questa modificazione della sostanza cromatica del nucleo è il primo passo ad alterazioni più profonde, quali si osservano in altri follicoli malpighiani: si vedono in questi dei numerosi granuli, di varia forma e vario volume, che assumono con grande intensità le sostanze coloranti del nucleo: essi trovansi ora raggruppati in piccoli cumuli, ora sparsi tra gli elementi cellulari. Sono manifestamente il resultato di uno spezzettamento del nucleo e rappresentano una fase ulteriore di quello stesso processo che si inizia con le modificazioni nucleari sopradescritte: si tratta in altre parole di un processo di cariorexi e di cariolisi perfettamente simile a quello che si osserva nei follicoli malpighiani nel corso di molte infezioni, in special modo della infezione difterica. [1]

Il follicolo di Malpighi non presenta limiti netti, ma si sfuma lentamente nella polpa circostante, la quale non presenta alcun fatto degno di particolare attenzione. Il sangue è molto scarseggiante ovunque, tanto nella pòlpa che nei follicoli: le guaine delle arterie che solcano la polpa splenica presentano molto spesso una infiltrazione parvicellulare assai spiccata.

Nei preparati trattati coll'acido osmico si vedono nella polpa sovrattutto, ma in parte anche nei follicoli, elementi piuttosto abbondanti per numero, i quali contengono numerose goccioline nere: sono in parte leucociti, ma in parte maggiore elementi fissi del tessuto e endotelii vasali.

Glandule linfatiche mesenteriali. — Il reperto istologico di queste glandule varia assai a seconda che si tratta delle glandule più grosse o di quelle più piccole. Nelle prime si nota soltanto un grado più o meno spiccato di iperplasia cellulare: nello stesso tempo i vasi sanguigni si presentano fortemente turgidi e qualche volta si osservano delle piccole emorragie interstiziali.

Più profonde invece sono le lesioni che offrono all'esame istologico le glandule di piccolo volume. Osservando una sezione trasversale completa di queste glandule a piccolissimo ingrandimento si vede un orlo periferico intensamente colorato che si continua a mezzo di un margine fortemente frastagliato con la parte centrale, molto estesa, la quale spicca pel suo colorito pallidissimo e sembra come finamente cosparsa di piccole

[1] Vedi a tal proposito il mio lavoro precedentemente citato.

punteggiature a colorito molto vivo: l'uniformità del suo colorito è rotta poi qua e là da delle zone rotonde od ovalari che presentano presso a poco gli stessi caratteri di intensa colorazione dell'anello periferico. Adoperando un più forte ingrandimento si vede come l'orlo periferico corrisponda alla sostanza corticale, fortemente diminuita di spessore, e quelle zone più colorite sparse più o meno uniformemente per tutta l'area centrale della glandula non siano che le sezioni dei cordoni che solcano la sostanza midollare. I seni linfatici, fortemente dilatati, occupano la maggiore estensione della sezione della glandula: in essi gli elementi cellulari non sono più nettamente distinguibili gli uni dagli altri: il loro protoplasma sembra come fuso in una massa unica, rotta da fini solcature e da fori irregolari, massa cosparsa di nuclei e di goccioline rotonde, di varia grandezza fino alle dimensioni di granuli sottilissimi, le quali risaltano pel loro aspetto omogeneo e per l'intensità con cui hanno assunto il colore nucleare. Dei nuclei pochi presentano ancora il loro aspetto normale: i più si tingono molto pallidamente e in maniera diffusa: altri pur assumendo con certa intensità la sostanza colorante non presentano più tracce di un reticolo cromatico, ma si tingono uniformemente in tutta la loro estensione: altri infine sembrano rotti in blocchi irregolari di varia grandezza, più o meno ravvicinati tra loro in un cumulo rotondeggiante. Nella sostanza corticale i seni presentano delle alterazioni molto più profonde che verso il centro della glandula, specie a livello di quei punti ove un vaso afferente immette nel parenchima glandulare: quivi molte volte tutto il seno si vede ripieno di una massa protoplasmatica finamente granulare, che non contiene più affatto nuclei, sia pure alterati, ma soltanto granuli rotondi, finissimi, intensamente colorati; nello stesso tempo la massa protoplasmatica assume una leggera sfumatura del colore nucleare adoperato, come è tanto comune veder succedere a livello per esempio di una massa caseosa d'origine tubercolare o sifilitica.

Nella sostanza follicolare i centri germinativi non sono nettamente visibili: a loro livello si vedono qua e là delle aree rotondeggianti o piriformi che spiccano sul circostante parenchima per la profondità delle lesioni da cui sono colpiti gli elementi che le compongono: questi sono disfatti tutti quanti in un detrito protoplasmatico fittamente composto di granuli rotondeggianti, di varie dimensioni, che coi colori nucleari si tingono con molta intensità. Poche sono le zone di sostanza follicolare in cui gli elementi presentino tutti il loro aspetto normale: il più di solito tra gli elementi ancora ben conservati si vedono uniformemente sparsi in maggiore o minor copia quegli stessi granuli cromatici di cui a più riprese abbiamo dovuto discorrere.

Le lesioni dei cordoni della sostanza midollare sono molto meno intense di quelle riscontrate nella sostanza follicolare e si limitano alla presenza dei soliti granuli tra gli elementi cellulari ben conservati: questi poi sembrano come uniformemente allontanati tra di loro, onde il co-

lorito della sezione del cordone, visto a piccolo ingrandimento, sembra meno vivo di quello della sostanza follicolare: l'impressione generale è come se esistesse un leggero grado di edema di questi cordoni. In nessun punto della glandula si osservano fatti che stieno anche lontanamente ad indicare un movimento proliferativo qualunque per parte dei nuclei.

I vasi maggiori sono di solito ripieni di sangue e non raramente si osservano in essi, soprattutto nelle vene, delle cellule endoteliali rigonfie e in via di desquamazione. I vasi più piccoli e tutto il sistema capillare sono invece vuoti di sangue: i capillari che si trovano nelle zone o in vicinanza immediata delle zone più fortemente alterate presentano sempre degli endotelii fortemente rigonfi e qualche volta completamente desquamati nel lume vasale.

Questi i fatti anatomici ed istologici rilevabili con lo studio di questo caso interessante di peritonite da perforazione. In brevi parole noi possiamo riassumere tutta l'osservazione nella maniera seguente:

In un individuo giovane, robustissimo, nel più completo stato di salute, senza precedenti morbosi nè prossimi, nè remoti, un calcio di cavallo nel ventre determina la rottura di un'ansa intestinale, in seguito a che si accende una peritonite generale che in 29 ore conduce a morte il paziente.

L'esame necroscopico rileva i soliti fatti banali di tutte le peritoniti da perforazione. Con l'esame istologico si riscontrano lesioni importanti dal lato de' reni, del fegato, della milza e delle glandule linfatiche del mesenterio.

Ne' reni ciò che predomina è una necrosi diffusa degli elementi epiteliali di tutto il labirinto renale, con integrità completa de' glomeruli e della sostanza piramidale.

Nel fegato si osservano: piccole zone diffusamente sparse nella sostanza epatica, in cui gli elementi cellulari si caratterizzano per un notevole pallore del protoplasma e una tendenza a perdere i loro confini ben definiti per fondersi tra loro: elementi con nuclei multipli ed elementi con grossi nuclei molto ricchi di cromatina: rigonfiamento ed incipiente desquamazione degli endotelii vasali: dilatazione vasale per distretti più o meno amplii senza nessun costante rapporto con la struttura del lobulo epatico: infiltrazione parvicellulare di

molti setti interlobulari: zone di degenerazione grassa diffusamente sparse nel parenchima.

Nella milza si nota: rigonfiamento spiccato de' follicoli malpighiani e infiltrazione parvicellulare delle guaine arteriose: presenza di cellule epitelioidi al centro di molti follicoli: fatti di cariolisi e di cariorexi per parte de' nuclei degli elementi cellulari componenti il follicolo: presenza di abbondanti goccioline grasse nel protoplasma di molti elementi della polpa e de' follicoli (cellule linfoidi, leucociti, endoteli vasali).

Nelle glandule linfatiche mesenteriali variano le alterazioni a seconda che si considerano le più voluminose tra esse o quelle di più piccole dimensioni. Nelle prime non si osserva che un grado variabile di iperplasia cellulare e un' iperemia più o meno spiccata. Nelle seconde le alterazioni sono più variate e più intense: i seni linfatici presentansi fortemente dilatati e gli elementi in essi contenuti per la maggior parte offrono segni di incipiente necrosi: dovunque esistono fatti spiccati di cariolisi e di cariorexi. La sostanza follicolare è compressa verso la periferia della glandula e non lascia più nettamente riconoscere la presenza di centri germinativi: invece a livello de' punti da questi generalmente occupati si osservano zone di più o meno progredita mortificazione degli elementi con fatti intensi di frammentazione nucleare: questi stessi fatti poi si ripetono con varia intensità per tutta la sostanza follicolare, nonchè, sebbene in più modeste proporzioni, ne' cordoni della sostanza midollare, i quali sembrano in preda ad un leggero grado di edema. Ne' vasi maggiori, specie venosi, si notano molte cellule endoteliali rigonfie e in parte desquamate: il rigonfiamento e la desquamazione endoteliale sono poi un fatto quasi costante a livello de' capillari, specie là dove più spiccate sono le alterazioni parenchimali.

I fatti istologici suesposti si presterebbero a molte e variate considerazioni: io non intendo affatto di entrare in una critica minuta di essi: non posso però astenermi completamente dall' illustrare con brevi parole alcune delle alterazioni principali riscontrate ne' varii visceri presi in esame, onde poi poter più agevolmente risalire alla sintesi di tutte queste

alterazioni e metterle in rapporto con la causa che le ha prodotte.

Le lesioni riscontrate ne' reni non possono in alcuna maniera venire interpretate come espressione di un vero processo di nefrite acuta: dell' infiammazione renale vera e propria mancano i caratteri più salienti, sopratutto mancano i fatti glomerulari, l'essudazione nello spazio capsulare, l'infiltramento leucocitario, la formazione di cilindri e via dicendo, fatti tutti che non sogliono mai mancare in qualsiasi processo di nefrite acuta: qui invece si ha che fare con una mortificazione in massa degli elementi più nobili del rene, gli epitelii de' tubuli contorti, come se una sostanza a forte potere necrotizzante avesse contemporaneamente agito su tutto il sistema epiteliale secernente del rene: è la stessa immagine precisa che si ha in certi avvelenamenti acuti per sostanze ad altissimo potere tossico, come per esempio il sublimato. Erroneamente, a mio avviso, si chiamano nefriti le lesioni che questo veleno induce nel rene: non è infatti un' infiammazione che esso suscita nell'organo, ma una mortificazione estesa di tutto il sistema epiteliale dei tubuli contorti e se noi compariamo sotto il microscopio l'imagine istologica del rene in un caso di avvelenamento acuto da sublimato con quella offerta dal rene nel caso surriferito di peritonite da perforazione si rimane subito colpiti dalla presso che identità delle lesioni.

È questo un fatto che ha una grande importanza per intendere il meccanismo genetico di queste alterazioni, come tra breve avrò occasione di meglio porre in rilievo.

È ormai generalmente noto cosa debba intendersi secondo l' Hanot per *foie infectieux:* stabilendo questa nuova entità anatomo-patologica l'autore ha inteso di raccogliere in un tutto unico la serie numerosa di fatti morbosi che si sogliono riscontrare nell'organo epatico in seguito alle infezioni più svariate: esce da' limiti ristretti di questo lavoro riassumere anche brevemente i caratteri principali che l'autore assegna al suo *fegato infezioso*, e tanto più volentieri mi astengo dal farlo in quanto chi avesse vaghezza di più minuti particolari a questo proposito non avrebbe che a consultare il mio lavoro

altrove citato sulle lesioni istologiche di varii visceri nell'infezione difterica, dove l'argomento è trattato con molta ricchezza di particolari: quello che importa di rilevare in questo punto si è che le lesioni da noi riscontrate nel fegato nel caso preso in esame di peritonite da perforazione, rientrano tutte quante nel quadro isto-patologico tracciato dall'autore pel suo *foix infectieux*, e somigliano assai da vicino quelle stesse lesioni che noi medesimi abbiamo avuto luogo di studiare in quest'organo in una serie assai numerosa di casi di infezione difterica.

Le alterazioni di cui è sede la milza somigliano completamente a quelle che nell'organo inducono molte infezioni acute: il rigonfiamento de' follicoli, la presenza in essi di cellule epitelioidi e sopratutto di focolai di frammentazione nucleare sono fatti che si riscontrano ad ogni piè sospinto studiando le manifestazioni morbose indotte nel viscere dall'infezione difterica: ma non è in questa sola infezione che i fatti morbosi predetti si determinano nella milza, sibbene in molte altre malattie infettive, quali il morbillo, la febbre tifoide, la pneumonite, la bronco-polmonite primitiva, ecc., come ne fanno fede i miei studii a questo proposito riferiti nel lavoro sopracitato. Anche la presenza di abbondanti goccioline grasse ne'varii elementi cellulari di cui si compone il parenchima splenico è un fatto che rientra nella categoria di quelli che sono capaci di suscitare nell'organo i processi infettivi, come ha potuto rilevare il Müller (1) studiando il tumore acuto di milza nell'infezioni.

Per quel che riguarda le glandule linfatiche io non ho nella serie numerosa di malattie infettive altro punto di paragone che le lesioni determinate in quest'organo dell'infezione difterica, poichè non è a mia cognizione che queste glandule siano state oggetto di studii speciali in altre infezioni. Comparando il reperto istologico delle glandule mesenteriali nel caso precedente di peritonite da perforazione con

---

(1) **Müller**, *Beiträge zur Kenntniss der acuten Milzanschwellung.* (**In. Diss. Freiburg**, 1890.)

quelli da me ottenuti con lo studio di un numero assai notevole di glandule linfatiche nella infezione difterica, se nelle modalità secondarie è facile ritrovare divergenze più o meno accentuate, nelle linee fondamentali è altrettanto facile rilevare come le alterazioni morbose quasi si identifichino nell'una malattia e nell'altra.

Ed invero tra le alterazioni più caratteristiche che si stabiliscono nelle glandule linfatiche per effetto della infezione difterica sono da annoverarsi quegli stessi fatti di necrosi e necrobiosi cellulare, di cariorexi e cariolisi, che abbiamo visto dominare il campo delle lesioni morbose nel caso di peritonite da perforazione.

Da questo breve esame critico delle alterazioni studiate ne' varii visceri addominali, chiaro emerge il concetto essere esse della stessa natura di quelle che in questi medesimi visceri si stabiliscono nel corso delle infezioni acute: se già non resultasse più che all'evidenza per altri caratteri, questo solo basterebbe per stabilire la natura infettiva del processo che si svolge nel cavo peritoneale in seguito ad una perforazione dell'intestino. Ma ci sono infezioni ed infezioni, o per meglio dire la ripercussione sul generale dell'organismo e le lesioni viscerali a distanza dal focolaio di primitiva infezione si possono stabilire ne' processi infettivi per meccanismo differente: o per una diffusione de' germi specifici dal punto di primitivo annidamento all'organismo intero (processi setticoemici), o per il continuo riversarsi nella massa sanguigna de' prodotti tossici elaborati da' microrganismi a livello dalla lesione locale primitiva (processi tossicoemici). A quale di queste due categorie appartiene il processo infettivo che caratterizza la peritonite da perforazione? I miei studii sull'argomento, consegnati nella memoria citata in principio di questo lavoro, non lasciano dubbio in proposito: per essi ho potuto escludere in maniera assoluta che si tratti di una setticemia: siamo perciò costretti a vedere nella peritonite da perforazione un processo tossicoemico, dello stesso tipo per esempio della difterite: al pari che in questa malattia noi abbiamo un focolaio locale di infezione, rappresentato dalla sierosa addominale infiammata, nel

quale il rigoglioso vegetare de' microrganismi elabora una grande quantità di prodotti tossici, che riassorbiti e portati in circolo sono la causa efficiente e de' sintomi clinici generali più spiccati e sopratutto delle lesioni viscerali che poco sopra abbiamo studiate. Tra queste lesioni, per la loro gravità, quelle del rene meritano un'ultima parola di commento: la loro rassomiglianza con le lesioni renali che si stabiliscono in certe intossicazioni acute dell'organismo per veleni potenti, come il sublimato, testificano non solo dell'alto potere tossico delle sostanze che vengono riassorbite dal focolaio morboso locale, ma e sopratutto della intensità dell'intossicazione cui soggiace l'organismo intero. D'altro canto la profondità di queste lesioni e il loro rapido stabilirsi ci spiegano molto bene la rapidità talvolta fulminea di decorso della peritonite da perforazione, in nessun rapporto bene spesso con l'estensione e la gravità de' fatti locali, nonchè uno de' sintomi più costanti di questa forma di peritonite, l'anuria quasi completa, anuria vera e propria, per cessata secrezione orinaria, come ne fanno fede i reperti anatomici stessi, ne' quali la « vescica vuota e contratta » figura come una nota costante.

In questa guisa il concetto da cui mi sono partito nell'intraprender questo studio istologico, di ricercare cioè nei visceri più importanti e sopratutto in quelli deputati alla depurazione dell'organismo (reni, fegato), la prova materiale dell'avvenuta intossicazione dell'organismo medesimo, ha trovato la sua piena conferma ne' fatti. E con ciò possiamo lusingarci di aver potuto assidere sulla base incrollabile de' fatti materialmente provati la tesi, da noi altrove e con altri criteri sostenuta, che nella peritonite da perforazione ciò che domina la scena morbosa, ciò che imprime alla malattia la sua impronta speciale, non sono i fatti locali, banali di flogosi peritoneale, non è un processo setticemico per *bacterium coli* o per altro microorganismo vegetante nella sierosa infiammata, ma è l'intensa intossicazione acuta dell' organismo per effetto delle tossine che nella sierosa stessa continuamente si elaborano pel rigoglioso vegetare de' microrganismi giuntivi col contenuto intestinale.

I resultati dello studio di questo caso così tipicamente puro di peritonite da perforazione sono stati per me di prezioso ausilio per rettamente interpretare le complesse alterazioni morbose riscontrate ne' reni, fegato e milza in molti altri casi anatomici da me precedentemente studiati e per potere tra di esse sceverare con sicurezza quelle che realmente erano da mettersi in conto del processo peritonitico da quelle altre più variate e più numerose che con esso non avevano nessuna immediata connessione di causa ad effetto, ma stavano solo a rappresentare alterazioni preesistenti dovute a cause morbose pregresse. Io non intendo affatto di riportare qui la serie assai numerosa di osservazioni anatomiche ed istologiche da me fatte in un periodo di diversi anni, da che mi occupo dell'argomento della peritonite da perforazione, e tanto più volentieri me ne astengo in quanto io possa in poche parole riassumere il resultato di tutte le mie osservazioni. Se si astrae da delle particolarità d'indole tutt'affatto secondaria, si può dire che nelle loro linee generali i fatti morbosi descritti a proposito del caso surriferito di peritonite da perforazione si riscontrano con intensità maggiore o minore in tutti i casi simili. Certo che la durata maggiore o minore del processo morboso, la causa diversa che ha determinato la perforazione, sopratutto lo stato pregresso dell'organo sede delle lesioni, può modificare più o meno spiccatamente l'intensità loro: ma quanto a natura restano sempre le stesse.

E questo non vale solo per le vere e proprie peritoniti da perforazione, ma si estende a tutto quanto il gruppo delle peritoniti di origine intestinale, come ho potuto convincermene con varie osservazioni. A conferma del mio asserto credo opportuno riportare succintamente la storia anatomica di un caso di occlusione intestinale per volvulo: scelgo tra varii casi questo come quello in cui il reperto istologico per quel che riguarda almeno i visceri più importanti, quali il fegato e i reni, si sovrammette quasi esattamente a quello precedentemente riferito di tipica peritonite da perforazione.

M. Luigi, di anni 40. Manca ogni dato relativo all'anamnesi e alla storia clinica del paziente, essendo stato portato allo

spedale dalla campagna in condizioni così gravi che, dopo poche ore di degenza, moriva.

L'autopsia fu da me praticata circa 36 ore dopo la morte, essendo ancora il cadavere, per la rigida stagione, in buonissimo stato di conservazione. Riporto brevemente il verbale necroscopico.

Conformazione scheletrica regolare: forte sviluppo delle masse muscolari: stato della nutrizione lodevole: rigidità cadaverica conservata: macchie ipostatiche al dorso. Ventre lievemente ed uniformemente sollevato con incipiente colorito verdognolo in tutta la sua estensione.

Tensione della dura madre normale, trasparenza leggermente diminuita. Nel seno longitudinale superiore un piccolo coagulo sanguigno. Vasi della base integri. Sostanza cerebrale anemica, leggermente edematosa.

All'apertura dell'addome non sfugge gaz: nella cavità si trova modica quantità di liquido fortemente sanguinolento, che accumulasi nel piccolo bacino e nell'escavazione de' fianchi. Le anse intestinali sono distese da gaz: il maggior numero di esse è arrossato per spiccata iniezione dei piccoli vasi peritoneali. Due anse intestinali più delle altre fortemente distese, poste l'una parallelamente all'altra come le canne di un fucile, dirette dal basso all'alto e dalla linea mediana verso destra, spiccano per un colorito verde nerastro intenso. Nella loro parte superiore in corrispondenza dell' epigastrio esse passano direttamente l'una nell'altra, con una curvatura molto stretta, a livello della quale però non si constata diminuzione di calibro dell'ansa stessa nè esistenza di briglie che la fissino agli organi vicini: le due anse così alterate si approfondano nell'escavazione del piccolo bacino. Tra le anse intestinali esistono delle aderenze estremamente delicate: il grande epiploon è retratto in alto e finamente iniettato: esiste pure leggera iniezione del peritoneo parietale che riveste la parete anteriore dell'addome. Nè fegato, nè milza sporgono dall'arco costale. L'altezza del diaframma è segnata dal quinto spazio intercostale d'ambo i lati.

Area cardiaca un po' minore del normale. Le due cavità pleuriche sono traversate da antiche aderenze: nella cavità del pericardio una cucchiaiata circa di liquido sieroso. I due polmoni sono aumentati di volume per stato enfisematoso, sopratutto spiccato a livello de' margini anteriori e de' lobi superiori. La mucosa bronchiale è spalmata di piccola quantità di muco: il parenchima polmonare insieme a fenomeni d'ipostasi nelle parti più declivi presenta un grado spiccato di edema. Il cuore ha volume normale: nella faccia anteriore del ventricolo destro si osserva una macchia lattea.

Le cavità cardiache sono presso che completamente vuote di sangue: si trova solo un piccolo coagulo nel ventricolo destro che si prolunga verso l'arteria polmonare: gli orificii e gli apparati valvulari sono integri: il miocardio è d'aspetto normale.

La milza ha volume normale: la capsula è leggermente rugosa, il parenchima piuttosto povero di succo, di colorito rosso-scuro, lascia riconoscere con molta evidenza le trabecole connettivali. Svolgendo la matassa intestinale si osserva che essa è uniformemente e fortemente distesa dal duodeno fino oltrepassata la flessura sinistra del colon: l'S iliaca, fortemente sviluppata, munita di un lungo mesocolon, è avvolta sul proprio asse, costituendo in questa maniera quelle due grosse anse nerastre descritte nella porzione destra dell'addome. Per tutta l'estensione dell'S iliaca l'intestino si presenta di un colorito rosso-scuro intenso e fortemente dilatato: la dilatazione e il colorito rosso-scuro cessano bruscamente a livello del punto in cui l'S iliaca passa nel retto: questo è completamente afflosciato e vuoto. Il mesocolon iliaco è fortemente infiltrato di sangue specie lungo la sua inserzione all'intestino. Il fegato è piuttosto piccolo, misura 25 centimetri nel diametro trasverso, 20 nell'antero-posteriore ed ha un massimo spessore di 7 centimetri. La capsula del Glisson appare diffusamente opacata: sulla faccia superiore sono ben evidenti numerosi solchi respiratorii. La vescicola biliare è distesa da abbondante bile nerastra.

Il parenchima epatico è di consistenza leggermente diminuita: la superficie di sezione si presenta di colore rosso molto chiaro cosparsa di macchiettature giallastre.

Reni piuttosto piccoli: la capsula si svolge con facilità: la superficie dell'organo è liscia, di colorito grigio-giallognolo con striature rossastre. All'esame interno la sostanza corticale, leggermente aumentata di spessore, presenta un colorito grigio-giallastro con scarse striature e punteggiature rosse: è meno lucente del normale e di minore consistenza.

Lo stomaco dilatato è ripieno di un liquido giallastro: nell'intestino non si notano dal lato della mucosa fatti morbosi tranne a livello dell'S iliaca, in cui tutta la parete intestinale è infiltrata di sangue: non si osservano però soluzioni di continuità sia pure limitate alla sola mucosa.

Diagnosi anatomica. Occlusione intestinale per volvulo dell' S iliaca: peritonite generale. Edema ed enfisema polmonale. Anemia ed edema cerebrale. Incipiente degenerazione grassa del fegato. Nefrite acuta.

Adoprando gli stessi liquidi fissatori e a mezzo degli stessi processi colorativi, anche di questo caso ho studiato istologica-

mente i reni, il fegato, la milza e le glandule linfatiche del mesenterio, riscontrandovi le seguenti alterazioni.

Rene. A piccolo ingrandimento si ha l'imagine precisa offerta dal rene nel caso precedentemente studiato, tanto che se si sottopongono all'esame microscopico contemporaneamente sotto uno stesso preparato due sezioni di rene provenienti dai due casi, non si riesce a distinguere quale appartenga all'un caso e quale all'altro. Usando poi ingrandimenti più forti si rilevano particolarità morbose che rassomigliano siffattamente a quelle riscontrate nel caso precedente da renderne superflua ogni descrizione. Anche qui infatti domina la scena de' fenomeni morbosi, una profonda e quasi totale necrosi degli epitelii de' tuboli contorti con le stesse particolarità di cariorexi e di cariolisi là notate: gli archi venosi alla base delle piramidi sono fortemente congesti al pari di molte vene del cortex corticis. Tutto ciò che di nuovo o di diverso si nota dal caso precedente si è da una parte una minore compromissione delle anse di Henle, un gran numero delle quali presenta caratteri perfettamente normali, dall'altra un leggero rigonfiamento di alcune cellule epiteliali della capsula del Bowman con incipiente loro desquamazione: sono però alterazioni di grado così lieve che debbono essere ricercate con cura per rilevarne l'esistenza.

Fegato. Quasi tutto il parenchima epatico presenta un pallore spiccatissimo: i capillari sono qua e là dilatati ma molto modicamente: in alcuni di essi si vede qualche cellula endoteliale rigonfia. Esiste abbondante pigmento biliare che occupa di preferenza le cellule situate verso il centro dell'acino. In alcuni punti gli elementi epatici non mostrano più limiti netti, ma tendono a fondere le loro masse protoplasmatiche. Alcuni nuclei assumono appena una sfumatura di colore che ne disegna il contorno: altri, assai abbondanti, si caratterizzano pel loro grande volume, due, tre e anche quattro volte maggiore del normale: di questi alcuni mostrano nello stesso tempo un reticolo cromatico più abbondante, altri invece sono molto pallidi e oltre il contorno colorato non si vedono nel loro interno che scarse granulazioni di cromatina, non più filamenti in regolare connessione tra loro a formare un vero reticolo. In alcuni setti interlobulari, specie tra i più piccoli, vi è manifesta infiltrazione parvicellulare.

Milza. Non si riscontrano quasi più follicoli nell'organo, fenomeno in connessione certamente con l'età piuttosto avanzata del soggetto: que' pochissimi che si possono ancora riconoscere come tali sono manifestamente atrofici. Nella polpa si nota solo del sangue in abbondanza che distende i vasi e forma qua e là qualche piccola emorragia parenchimale.

Glandule linfatiche mesenteriali. Mostrano soltanto una iperplasia

cellulare più o meno spiccata con iperemia del parenchima e talora con dilatazione assai forte de' seni linfatici: non si riscontrano però fenomeni di cariorexi nè di cariolisi.

Non faccio commenti a questi reperti: basta leggerli per convincersi della verità di quanto sopra ho affermato, esser cioè le lesioni più fondamentali, quelle specialmente che riguardano gli organi più interessanti, quali il fegato e i reni, perfettamente identiche a quelle rilevate nel caso precedente.

* * *

Dinanzi al reperto istologico del caso surriferito, così tipicamente puro, di peritonite da perforazione, da possedere, come altrove ho già fatto notare, tutto il determinismo di un esperimento di laboratorio, i resultati del mio studio sperimentale in rapporto all'argomento che ci occupa passano completamente in seconda linea: non credo però che debbano per questo essere del tutto trascurati, poichè essi pure possono offrirci degli utili ammaestramenti. Soltanto per amor di brevità e in considerazione appunto del loro valore affatto subordinato, mi limiterò a riportarli nel loro complesso, senza fermarmi sui resultati delle singole esperienze, il cui numero è assai notevole per permettere di esporne il resultato finale in maniera sintetica.

Quale animale da esperimento ho sempre adoprato il cane come quello che tra i comuni mammiferi di laboratorio più sicuramente e più prontamente reagisce allo stimolo morboso, indotto a mezzo della comunicazione tra un'ansa intestinale e la cavità del peritoneo. La peritonite che in tal modo si suscita nel cane, riveste un carattere di violenza uguale se non superiore a quello che si nota nella specie umana, e di questa presenta tutte le caratteristiche anatomiche rilevabili con l'esame macroscopico.

L'esperimento era sempre condotto nella seguente maniera. Aperta, con tutte le più scrupolose cautele della asepsi, la cavità addominale sulla linea mediana per l'estensione di pochi centimetri, veniva estratta un' ansa del tenue, su cui si praticava una piccola apertura a mezzo di una forbice sterilizzata, per

maniera da portarne via un segmento a forma di cuneo. I labbri della soluzione di continuo erano cauterizzati con la potassa caustica, onde impedirne il rapido coalito, e poscia l'ansa veniva riposta nella cavità del ventre. Suturata la ferita addominale, il cane era lasciato a sè in luogo caldo e vigilato fino all'esito letale, il quale soleva avvenire in uno spazio di tempo variabile tra 20 e 50 ore all'incirca.

La peritonite da perforazione che sperimentalmente si provoca sul cane ha una fisionomia anatomica così uniforme da potersi facilmente riassumere in maniera generale e quasi schematica.

Nella cavità dell'addome si trova sempre in quantità variabile tra 50 e 100-200 cmc. un liquido rossastro, fortemente torbido, in cui nuotano abbondanti fiocchi giallastri. La sierosa peritoneale è per più o meno larga estensione finamente iniettata, cosparsa di macchie ecchimotiche e rivestita di stracci di essudato bianco-grigiastro, poco tenace, facilmente lacerabile, molto umido, essudato che ha più i caratteri dell'essudato purulento che di quello fibrinoso. Le anse intestinali sono agglutinate tra loro e col grande epiploon da questo stesso essudato e si presentano per variabile estensione finamente iniettate. È raro che il processo infiammatorio si estenda uniformemente a tutta la sierosa sì parietale che viscerale: il più di sovente predomina nelle parti basse del ventre per andarsi lentamente dileguando quanto più ci si avvicina alla regione epigastrica: il massimo delle alterazioni si trova sempre in vicinanza del punto ove ha sede l'ansa perforata. Sul fegato si vedono spesso delle delicatissime membranelle di fibrina distese sulla capsula del Glisson, specie dal lato della convessità. L'organo è un po' voluminoso, la superficie liscia, non di rado cosparsa di macchiettature giallastre che fanno spiccato rilievo sul fondo rosso bruno dell'organo stesso: la cistifellea è di solito distesa da abbondante bile nerastra, fluida. Al taglio del fegato si osserva quasi costantemente un sovrempimento de' grossi tronchi venosi e uno stato più o meno manifesto di congestione dell'organo: non è raro ritrovare sulla superficie di sezione quelle stesse macchie giallastre che si notano sulla superficie esterna del viscere. I reni non presentano nel maggior numero dei casi lesioni rilevabili all'esame macroscopico, se se ne eccettua un grado più o meno spiccato di congestione venosa: solo qualche volta la sostanza corticale mostrasi di un colorito tendente al giallognolo, un po' meno lucente del normale e come solcata da strie rossastre. La vescica orinaria è quasi sempre vuota e contratta. Nella milza non si rilevano ad occhio nudo lesioni apprezzabili. Le glandule del mesenterio sono

di solito ingrossate, alcune di aspetto succulento, midollare, altre arrossate, fortemente congeste e non di rado cosparse di piccole emorragie puntiformi. Nell'interno del canale intestinale non si trova liquido: la mucosa, spalmata di muco tenace, non è arrossata, nè presenta altri caratteri di lesione morbosa. Le placche del Peyer sono qualche volta un po'tumefatte e circondate da un leggero alone rossastro.

Nulla di notevole si osserva da parte degli altri visceri addominali, come in genere di tutti gli altri visceri del corpo, dei quali, non interessandoci direttamente, lascio per brevità di dire anche del semplice reperto macroscopico.

Come è facile rilevare da quanto sopra è detto, il reperto anatomico nella peritonite da perforazione del cane di poco differisce da quello che si osserva nella specie umana: soltanto, dato il decorso in genere più rapido della malattia, le lesioni peritoneali sono di solito meno diffuse e meno progredite nella loro evoluzione. Quanto alle lesioni viscerali, queste difficilmente si lasciano con sicurezza rilevare al semplice esame macroscopico tanto nell'un caso che nell'altro.

I visceri de' cani d'esperimento che ho creduto opportuno sottoporre all'esame microscopico sono stati quegli stessi da me studiati ne' casi di peritonite umana, il fegato, i reni, la milza e le glandule linfatiche del mesenterio. Medesimi sono stati i trattamenti fissativi e colorativi. Ecco in succinto il reperto istologico.

Reni. — A differenza di quello che si osserva nella specie umana, le lesioni di questo viscere sono sempre assai limitate, talvolta anzi è solo con grande cura e pazienza che si riesce a scuoprirne le traccie.

Il più di sovente si nota un forte ingorgo vascolare, spiccato soprattutto a livello degli archi venosi che si trovano alla base delle piramidi e nel cortex corticis: più rare sono le emorragie, sempre limitate, puntiformi. Le lesioni più frequenti sono quelle del labirinto renale, le quali però sono molto lontane per intensità e soprattuto per estensione da ricordare quelle della specie umana.

Spesso si osservano in molti tubuli contorti delle cellule epiteliali più o meno profondamente alterate: ora tutto si limita ad una minore attitudine del nucleo a fissare le sostanze coloranti: ora invece le lesioni progrediscono fino alla necrosi completa dell'elemento cellulare. Di solito sono cellule isolate, che si incontrano qua e là nei tubuli contorti, quelle che sono sede di tali alterazioni: ma qualche volta s'incontrano anche

sezioni di tubuli contorti nelle quali tutto quanto l'epitelio è mortificato: in questi casi si osserva talvolta il rivestimento epiteliale restare in sito, tal'altra distaccarsi e cadere nel lume del canalicolo, tal' altra infine formare una massa uniforme, finamente granulare, rotta in zolle e blocchi di variata dimensione e varia conformazione: avviene altresì talora di incontrarsi in canalicoli ripieni unicamente di un detrito granulare, oppure completamente vuoti, ma non collabiti: esaminandoli con attenzione si vedono sulle loro pareti dei resti più o meno abbondanti di detrito granuloso: manifestamente si tratta di canalicoli da cui il rivestimento epiteliale necrosato e ridotto a detrito si è distaccato ed è stato trascinato via dalla corrente urinaria.

Nel maggior numero dei casi i glomeruli sono integri: non mancano però casi in cui sono sede di alterazioni, talvolta anche molto spiccate e intense. Nelle forme più leggere queste lesioni glomerulari consistono in un rigonfiamento e desquamazione dell' epitelio della capsula e di quello che riveste le anse vascolari: nelle forme più gravi si hanno tutti i fenomeni di una vera glomerulite: gli epitelii capsulari non solo sono desquamati ma si presentano completamente mortificati, tra le anse si infiltrano abbondanti leucociti, nello spazio capsulare dilatato si accumula un essudato finamente granulare.

In preparati trattati con acido osmico si osserva in alcuni casi la presenza di abbondanti goccioline nere in mezzo al detrito granuloso che riempie alcuni tubuli contorti: si osservano altresì non infrequentemente delle goccioline simili nel protoplasma di elementi epiteliali in apparenza ben conservati: ciò succede in special modo a livello delle anse di Henle.

Fegato. — Esaminando il parenchima epatico si incontrano sempre delle zone più o meno estese, non aventi alcuna ubicazione fissa per rapporto alla struttura del lobulo, le quali spiccano sul resto del parenchima per un colorito estremamente pallido del protoplasma degli elementi cellulari che lo compongono. Bene spesso queste zone corrispondono a distretti ne' quali è molto spiccata la dilatazione de' capillari, ma non sempre, come viceversa si incontrano talora zone a forte dilatazione vasale in mezzo ad isole di parenchima perfettamente sano. Gli elementi che compongono queste zone più pallide non presentano di solito segni di lesioni molto profonde: soltanto i limiti cellulari sono spessissimo scomparsi e le singole cellule sembrano fondersi le une nelle altre: quando il capillare su cui si appoggiano le colonne cellulari ha perduto il suo endotelio, da questo lato le cellule appaiono ben spesso come sfrangiate: i nuclei qualche volta assumono il colore con intensità minore del normale: mai però ho incontrato nuclei che non si colorassero più affatto. Invece in queste zone pallide ho qualche volta riscontrato degli elementi cellulari il cui protoplasma aveva perso quasi completamente la sua granulazione e talora si era addirittura trasformato in una massa uniforme, d'aspetto vitreo.

La dilatazione del sistema capillare è un fatto costante: non si osserva però mai in modo uniforme distribuita per tutto il parenchima, ma s'incontra ad isole più o meno estese, che soltanto in pochi casi corrispondono per ubicazione a parti ben determinate del lobulo, per esempio alla zona centrale. In queste isole di dilatazione capillare si notano quasi sempre alterazioni più o meno profonde del rivestimento endoteliale: il più di solito le cellule sono fortemente rigonfie, qualche volta però anche desquamate nel lume del vaso e in parte necrotiche.

Dal lato de' setti interlobulari non ho mai osservato alterazioni degne di nota.

Saggiando la reazione del grasso a mezzo dell'acido osmico, si osservano di solito finissime granulazioni nere più o meno diffusamente sparse nei varii elementi parenchimali: raro è incontrare vere zone di degenerazione grassa e se esistono sono sempre limitate a piccoli gruppi di cellule.

Milza. L'organo è sede costante di lesioni sebbene in grado variabile: esse riguardano pressochè esclusivamente i follicoli malpighiani, la polpa non presentando in genere alcun fatto morboso degno di rilievo: contiene solo in quantità molto variabile del pigmento ocraceo, ora libero, ora incluso entro cellule pigmentifere: qualche volta, ma raramente, è molto ricca di sangue e anche sede di piccole emorragie parenchimali, prevalenti al disotto della capsula.

I follicoli di Malpighi sono sempre più o meno manifestamente rigonfi, fatto dovuto ora unicamente ad un' iperplasia cellulare, ora ad un vero e proprio edema localizzato al follicolo. Il più di sovente si osservano in questo fatti spiccati di frammentazione nucleare: i granuli cromatici ora sono raccolti in piccoli cumuli ora diffusamente sparsi tra gli elementi cellulari, molti de' quali presentano modificazioni notevoli per parte del loro nucleo, che mentre fissa con maggiore intensità i colori, assume delle forme atipiche molto variate, a biscotto, a mezzaluna, a ferro di cavallo e via dicendo. Di solito questi fatti si svolgono prevalentemente nelle parti centrali del follicolo, mentre alla periferia si trovano in quantità variabile degli elementi, il cui nucleo ha subìto modificazioni tali da simulare fasi cariocinetiche: è facile con un esame accurato convincersi, per l'irregolarità delle forme mitotiche e per altri caratteri, sui quali sarebbe troppo lungo l'insistere, che si tratta di forme abortive di cariocinesi, destinate ad un ulteriore disfacimento. Non sempre però è così, poichè in taluni casi vediamo questi movimenti nucleari svolgersi regolarmente fino alla fase finale di doppio gomitolo con segmentazione del protoplasma e allora è mestieri ammettere che si tratta di una reale moltiplicazione degli elementi pel meccanismo della cariocinesi.

In abbondanza maggiore o minore nei varii casi si veggono in

preparati trattati con l'acido osmico finissime granulazioni nere nel protoplasma di molti elementi, e ciò tanto nella polpa che nei follicoli.

Glandule linfatiche mesenteriali. L'alterazione più comune ad incontrarsi in queste glandule è una spiccata iperplasia cellulare, consociata il più di sovente ad un grado notevole d'iperemia del parenchima: qualche volta esistono anche piccole emorragie e in un caso ho visto tutto il sistema de' seni, fortemente dilatati, allagato addirittura dal sangue, rimanendo però mantenuta la struttura della parte e senza alterazione degli elementi cellulari.

In molte glandule i centri germinativi della sostanza corticale spiccano chiaramente sul preparato come zone rotondeggianti o piriformi, di un aspetto più chiaro e circondate da un alone scuro, fatto da piccoli elementi, a nucleo molto ricco di cromatina, fittamente stipati gli uni sugli altri: alcune volte questi centri germinativi sono in stato evidente di edema, al pari di quello che abbiamo visto per i follicoli malpighiani: tale altra sono sede di fatti cariolitici più o meno intensi, fatti che in minor grado si ripetono sovente in modo diffuso per tutta o per gran parte della sostanza follicolare: in certi casi infine ho trovato i centri germinativi cosparsi addirittura di elementi nelle più variate fasi del processo cariocinetico: in tali circostanze si incontrano elementi in mitosi anche per tutto il restante parenchima della glandula e non solo nella sostanza follicolare e ne' cordoni midollari ma ne' seni linfatici stessi.

Raro è vedere qualche cellula degli endotelii vasali rigonfia o desquamata: mai poi ho riscontrato nel parenchima glandulare segni di degenerazione grassa degli elementi.

Comparando questi reperti istologici con quelli poco sopra illustrati nella peritonite da perforazione umana, si rilevano subito divergenze e rassomiglianze, che meritano brevi parole di commento.

Le lesioni epatiche, spleniche e glandulari si rassomigliano siffattamente ne' due casi da poter con sicurezza concludere alla loro perfetta identità. Non così per quel che riguarda il rene: quest'organo così profondamente leso nella peritonite umana, è invece sede di lesioni leggere, talora anzi leggerissime nella peritonite sperimentalmente provocata nel cane. Nè basta: la natura stessa delle lesioni è in parte se non totalmente differente ne' due casi: nell'uomo è il laberinto, specialmente il sistema de' tubuli contorti, la parte del rene più profondamente e quasi direi esclusivamente lesa: nel cane alle

lesioni labirintiche si consociano sempre alterazioni più o meno spiccate dell'apparato glomerulare, anzi talvolta queste sovrastano a tutte le altre nel quadro delle lesioni morbose renali. Questo fatto, se può servire da utile ammaestramento per indicare con quanta cautela si deve procedere nel concludere da lesioni sperimentalmente provocate negli animali a lesioni spontaneamente svolgentisi nella specie umana, non modifica per nulla la concezione generale che del processo della peritonite da perforazione ci siamo venuti facendo in seguito ai resultati del puro studio anatomo-istologico.

In un modo o nell'altro il rene è sempre leso; che lo sia a preferenza nel sistema labirintico o nell'apparato glomerulare è questione d'indole secondaria, che riflette attitudini e impressionabilità diverse di uno stesso organo per un medesimo stimolo morboso in specie differenti: il meccanismo però per il quale queste lesioni si stabiliscono nell'un caso e nell'altro rimane sempre lo stesso. D'onde completamente autorizzata, a nostro avviso, la conclusione che i dati forniti dall'esperimento confermano in ogni sua parte il resultato de'puri studii anatomici.

Prima di lasciare l'argomento, poche parole ancora per quel che riflette il lato bibliografico. Sfogliando la letteratura di questi ultimi anni non ho trovato che altri si fosse ancora nè anatomicamente, nè sperimentalmente occupato di quanto forma oggetto del presente lavoro: solo nel campo sperimentale ho potuto trovare due lavori, che hanno però con esso soltanto una lontana affinità.

Al 6° Congresso della Società italiana di Medicina interna, tenuto a Roma nell'ottobre 1895, Rovighi comunicava i resultati de' suoi studii sull'azione dei prodotti tossici della putrefazione intestinale sul fegato e sui reni. Egli iniettava a conigli e cavie alcuni di questi prodotti tossici, quali il fenol, l'indol e lo scatol, ed otteneva così un avvelenamento acuto e la morte dell'animale. Istologicamente riscontrò nel fegato una tumefazione torbida del protoplasma, una congestione venosa e una leggera infiltrazione parvicellulare intorno ai canalicoli biliari e ai vasi portali. Ne' reni non riscontrò lesioni importanti.

È facile vedere quanta poca connessione vi sia tra queste ricerche e le mie: non credo però vi sia ragione di porre le une in raffronto con le altre per ricercare in che convengano e in che divergano. E meno ancora quest'opportunità esiste per gli studii del Frisco [1], il quale ha ricercato quali alterazioni nel fegato e ne'reni determinassero i prodotti tossici della putrefazione; ciò perchè l'Autore ha avuto in mira unicamente le intossicazioni croniche, mentre nel caso nostro si tratta di fatti che rivestono il carattere della più spiccata acutezza.

Siena, decembre 1896.

---

[1] Frisco, *Sulle alterazioni del fegato e dei reni determinate dai prodotti della putrefazione intestinale.* (Riforma medica, vol. II, n. 70, 1896.)

(Dal laboratorio della Clinica medica di Bologna, diretta dal prof. A. Murri.)

RICERCHE SPERIMENTALI
SULLE ALTERAZIONI ARTIFICIALI E CADAVERICHE
DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE E PERIFERICO (1)

PEL

DOTT. SFAMENI PASQUALE.

(TESI DI LAUREA).

Le alterazioni, alle quali il sistema nervoso può andare soggetto a cagione del tempo trascorso dal momento della morte dell'organismo a quello in cui esso sistema nervoso viene fissato e conservato in liquidi opportuni, e quelle alterazioni inoltre che questi liquidi fissatori possono determinare nel sistema nervoso medesimo, hanno formato oggetto di studio per lo Schulz, il quale nel 1883 ha pubblicato un lavoro su tale argomento (2). Altri autori però, Charcot (3), Leyden (4), anche prima dello Schulz, avevano detto qualche parola su queste alterazioni; ma essi le hanno solo accennate incidentalmente trattando di un qualche argomento di patologia del sistema nervoso.

Lo Schulz, nel lavoro suddetto, si occupa delle alterazioni cadaveriche e artificiali del midollo spinale soltanto, ed espone i reperti dello esame patologico, fatto sopra venti midolli spi-

---

(1) Del presente lavoro fu data comunicazione alla Società medica di Bologna nella seduta del 22 giugno 1893, e un riassunto di questa comunicazione si trova nella *Gazzetta degli Ospedali* (Anno 1893, n.° 81, pag. 856) e nel *Bollettino delle Scienze mediche* di Bologna (Anno 1893, n. 10, pag. 722). Al detto lavoro con attestato del 4 gennaio 1894 venne assegnato il premio V. E. nella R. Università di Bologna.

(2) R. Schulz, *Ueber artificielle, cadaveröse u. pathol. Veranderung des Rückenmarks.* (Neur. Centralblatt, 1883, 23-24.)

(3) J. M. Charcot, *Leçons cliniques sur les maladies du système nerveux*, Vol. II, 1re partie.

(4) Leyden, *Rückenmarkskrankheiten*, Bd. I, S. 74.

nali, presi da cadaveri umani con intervallo da 1 a 44 ore dopo morte.

Questi midolli esaminati dallo Schulz furono presi da individui morti di malattie varie, alcune delle quali acute e di natura infettiva, per la qual cosa si può ragionevolmente credere, che il sistema nervoso abbia potuto risentire qualche influenza dannosa; di modo che doveva riuscire difficile distinguere le alterazioni cadaveriche da quelle patologiche, che per avventura potevano trovarsi in tali midolli. Per la stessa ragione non poteva essere agevole di discernere con certezza, nelle osservazioni dello Schulz, le alterazioni artificiali (dovute all' azione dei liquidi fissatori) da quelle patologiche o cadaveriche, poichè si sa, che midolli spinali morbosamente alterati — e quelli dello Schulz molto verisimilmente erano tali — anche quando si trattino tutti nella stessa maniera per operare l' indurimento, non tutti induriscono nel medesimo modo, ma alcuni più facilmente, altri meno, alcuni induriscono più presto, altri più tardi. In tal guisa se allo Schulz capitò di dovere indurire midolli sani e insieme midolli non del tutto normali, quantunque macroscopicamente sembrassero tali, ne derivò, che l' indurimento in essi non avvenne in modo eguale. Laonde i reperti dello Schulz non sono scevri di dubbio e d' incertezza.

Altra causa di errore nelle ricerche dello Schulz sta nel fatto, che egli non ha tenuto conto della temperatura dell'ambiente, in cui erano tenuti i cadaveri dalla morte fino al momento dell' asportazione del midollo spinale, poichè, come egli stesso dice in una nota al suo lavoro, delle temperature, che ha segnate, non bisogna tener gran conto; esse indicano solo se il cadavere è stato tenuto a temperatura calda o a temperatura fredda.

Essendomi proposto di ripetere le ricerche dello Schulz, ho cercato di evitare queste cause di errore; ed ecco come ho operato nei miei esperimenti.

Uccidevo conigli sani (e la necroscopia confermavali tali) dissanguinandoli mediante il taglio della carotide e appena morti, li ponevo nella stufa di Arsonvall a temperatura costante di 22° C. Toglievo poi questi conigli dalla stufa 4-8-12-16... 56 ore

dopo, con un periodo d'intervallo costante di 4 ore l'uno dall'altro, ne asportavo subito i pezzi da conservare e mettevo in abbondante liquido di Müller.

Così ho fatto per 14 conigli; oltre di questi però, ne ho esaminati altri 5, il sistema nervoso dei quali, appena tolto, fissavo non in liquido di Müller, ma in alcool assoluto.

Questi ultimi 5 conigli li ho lasciati nella stufa (nelle stesse condizioni dei primi 14) per 8-16-24....40 ore, con intervallo di 8 ore l'uno dall'altro.

Di 2 altri conigli infine, subito dopo di averli uccisi, ho preso gli organi nervosi e fissati, quelli di uno in liquido di Müller, quelli dell'altro in alcool assoluto.

I risultati di questi due esami mi sono serviti di paragone per i reperti dello esame di quei conigli, il cui sistema nervoso era stato preso e fissato parecchie ore dopo morte. Ho diretto le mie ricerche non soltanto sul midollo spinale, come fece lo Schulz, ma ho voluto estenderle ancora all'encefalo, ai nervi periferici e alle terminazioni nervose. L'encefalo e i nervi periferici li ho fissati e conservati negli stessi liquidi impiegati per fissare e conservare il midollo spinale (liquido di Müller, alcool assoluto). Per lo studio delle terminazioni nervose mi sono servito del cloruro di oro, impiegandolo secondo il metodo di Löwit e quello di Fischer. Facevo le reazioni sui muscoli e i tendini della sura ed esaminavo così i corpuscoli muscolo-tendinei del Golgi e le piastre motrici; essendo queste ultime di natura motoria e quelli di natura sensitiva, come pare provato da ricerche sperimentali fatte in proposito da Cattaneo [1].

La fissazione degli organi nervosi in liquido di Müller venne operata in tutti gli esperimenti nel medesimo modo, e cioè nelle due prime settimane tutti i giorni esso liquido veniva cambiato; per altre due settimane esso fu cambiato a giorni alterni e finalmente per altre otto settimane venne cambiato ogni sei giorni. La proporzione del bicromato di potassio,

---

[1] Cattaneo A., *Sugli organi nervosi terminali muscolo-tendinei.* (Arch. di Bizzozzero, Torino 1887.)

che dapprima era del 2, 5 °/₀, fu poi gradatamente aumentata fino al 5 °/₀.

Trascorso questo tempo necessario per la fissazione furono presi, da ciascuno dei sistemi nervosi fissati dei pezzi opportunamente scelti, e posti a lavare in alcool comune, che veniva cambiato ripetutamente ogni due o tre giorni, finchè l'ultimo, lasciato per 1-2 giorni senza cambiarlo, restava incoloro; allora veniva surrogato con alcool assoluto, che era cambiato 2-3 volte. Indi includevo in celloidina. La colorazione dei tagli (fatti col microtomo di Reichert) venne operata con diversi metodi: sempre gli stessi in ogni esame. Mi sono servito anzi tutto del metodo di Weigert, come quello più classico e più sicuro per la colorazione della mielina: ma i preparati più dimostrativi li ho ottenuti con le colorazioni carminiche, delle quali ne ho adoperate diverse, e cioè quella che si ottiene mediante il trattamento delle sezioni con acido picrico prima e carminio di Beale poi; quello che si ottiene col carminio di Hoyer e quello secondo il metodo di Henle e Merkel (cloruro di palladio e carminio neutro); finalmente poi ho adoperato il carmoallume di Meyer, che mi ha dato le colorazioni più chiare e dimostrative; di fatti con esso si ottengono colorazioni nitidissime e dei cilindrassi, che si tingono intensamente in rosso-violetto lucente, e della mielina, che si tinge in rosa chiaro, e delle cellule nervose e della neuroglia, di cui il protoplasma si tinge in rosso-violetto pallido, e il nucleo dello stesso colore, ma più intensamente.

Ecco come si procede per questa colorazione; si prepara dapprima la sostanza colorante così:

Acido carminico di Meyer	gr.	1
Allume crudo	»	10
Acqua distillata.	»	200

si scioglie il tutto a caldo, indi si decanta o si filtra. I tagli si lasciano in questa soluzione un tempo variabile, a seconda che le sezioni si colorano più o meno facilmente; per la colorazione diffusa i tagli si passano dalla sostanza colorante in acqua distillata; per la nucleare si passano in soluzione alluminosa al-

l' 1 %. Oltre alle suddette colorazioni mi sono servito ancora, più specialmente per fare risaltare i nuclei, della ematossilina di Böhmer.

Per tingere poi le sezioni di quei sistemi nervosi fissati in alcool assoluto ho adoperato il carminio litico di Orth, la ematossilina di Böhmer, il carminio neutro di Hoyer ed il carmallume di Meyer.

Ho voluto allestire un numero piuttosto cospicuo di preparati per ogni organo, perocchè questo è indispensabile quando si vuole, che le ricerche abbiano quell'attendibilità, che è necessario in simili investigazioni; e nel seguente specchietto trovasi appunto la somma delle preparazioni che io ho esaminate.

	Cervello [1]	Cervelletto	Bulbo	Midollo spinale	Nervi periferici	Terminazioni nervose
Numero delle preparazioni esaminate in tutto.	436	668	1347	1629	2222	253
Numero delle preparazioni in media per ogni esperimento.	20	31	64	77	105	16

I. — Risultato dell'esame di quei sistemi nervosi, fissati in liquido di Müller.

Osservazione I. — Coniglio del peso di gr. 1475: gli organi nervosi sono stati presi e fissati subito dopo morte.

Cervello. — Delle cellule nervose della sostanza grigia molte hanno aspetto normale. Altre presentano protoplasma jalino di colore sbiadito, uniforme; il nucleo in queste cellule ora è ben distinto, ora non si vede e qualche volta risalta in mezzo al protoplasma solo un punto lucente, ch'è il nucleolo; ma il contorno del nucleo si confonde col protoplasma. In poche cellule poi il protoplasma è finamente granuloso, pallidissimo,

[1] Ogni sezione di cervello era fatta trasversalmente di tutto un emisfero.

uniformemente sparso per tutto il cavo cellulare; il nucleo qualche volta manca. In alcune di queste ultime cellule si nota che i granuli protoplasmatici sono più radi da un lato della cellula, sicchè da quella parte rimane uno spazio piuttosto chiaro. Altre cellule infine presentano attorno al protoplasma delle cavità rotondeggianti od ovali o semilunari.

Nella sostanza bianca alcune cellule della glia hanno protoplasma sbiadito, jalino; le altre sono normali. Le piccole fibre nervose di questo strato tagliate trasversalmente si presentano ben distinte e spiccatamente colorate, specialmente nelle sezioni tinte con carmallume.

Cervelletto. — Nello strato molecolare le cellule in maggior numero presentansi di aspetto normale: poche danno a vedere invece il protoplasma sbiadito, finamente granuloso, e nucleo in mezzo ben evidente quasi sempre: altre presentano una zonula di protoplasma granuloso attorno al nucleo, lasciando vedere all'esterno uno spazio chiaro circolare. Le cellule del Purkinje sono quasi tutte normali; solo alcune presentano protoplasma finamente granuloso (e per lo più da un lato solo), i nuclei quasi in tutte risaltano bene; il tronco dei prolungamenti protoplasmatici si accompagna per buon tratto nello strato molecolare.

Delle cellule rotonde che stanno attorno a quelle del Purkinje, parecchie presentano protoplasma finamente granuloso e uno spazio chiaro circolare periferico, analogo a quello notato per alcune cellule dello strato molecolare. Nello strato dei granuli e in quello delle fibre o midollare, qua e là s'incontra qualche cellula con protoplasma finamente granuloso, e un anello chiaro periferico. Le piccole fibre nervose dello strato midollare tagliate trasversalmente, sono ben nette e gli esili cilindrassi spiccano molto bene se tinti col cormallume.

Bulbo. — Le cellule nervose si presentano quasi tutte normali; il protoplasma ben colorato, prolungamenti e nucleo ben distinti. In alcune cellule poi si vedono spazi chiari vuoti tutt'intorno al protoplasma; qualche volta questi vani si trovano da un lato solo della cellula. Si vedono poi alcune cellule molto grosse, il cui protoplasma è meno fortemente tinto di quello delle cellule precedenti, i prolungamenti in alcune di esse si vedono e sono piuttosto grossi e corti; in altre non si vedono; il nucleo ora è ben distinto ed ora, ma raramente, non si vede.

Le fibre nervose, esaminate su tagli fatti tanto nelle parti più basse del bulbo quanto in quelle più alte, in vicinanza del ponte di Varolio, si presentano tutte normali, nitidamente colorate e in maniera uniforme. I cilindrassi spiccano per il loro colorito intenso, vivo, lucente.

La nevroglia è del tutto normale; le sue cellule hanno nucleo e protoplasma ben colorati e distinti.

Midollo spinale. — Le cellule nervose in maggior numero sono del tutto normali; il protoplasma loro è uniforme e colorato intensamente, il nucleo ben distinto e così pure i prolungamenti protoplasmatici (Fig. 1, 3 e 4). In alcune cellule poi si osserva uno spazio stretto periferico sul

contorno del protoplasma. In molte altre invece si trova uno spazio periferico grande e formato da tante cavità di dimensioni varie, rotondeggianti od ellissoidi, contigue. (Fig. 2 e 5.) In alcune cellule queste cavità si trovano da un solo lato. I prolungamenti protoplasmatici, il nucleo e il nucleolo anche in queste cellule sono ben visibili, solo raramente il nucleo e il nucleolo non si scorgono.

Le fibre nervose sono tutte ben distinte e nitide, i cilindrassi sono fortemente tinti e splendenti. (Fig. 13.)

La nevroglia ha gli stessi caratteri notati sopra parlando del bulbo. L'epitelio del canale midollare è normale. Il lume di esso canale in gran parte è pieno di una sostanza granulosa, in mezzo alla quale si vede qualche nucleo.

Gangli intervertebrali. — Le cellule nervose di questi gangli sono a un dipresso tutte normali: il protoplasma occupa tutta la cavità cellulare, le cellule endoteliali della capsula sono evidentissime, il nucleo della cellula nervosa si presenta come una grossa vescicola, in mezzo alla quale spicca, per il suo colorito più intenso, il nucleolo. Solo in poche cellule il protoplasma non occupa tutta la cavità cellulare, di guisa che restano spazi chiari alla periferia. In altre cellule poi il protoplasma ha presa una tinta un po' sbiadita e il nucleo è poco distinto tanto da confondersi col protoplasma, in mezzo a cui risalta solo un punto lucente dato dal nucleolo, oppure anche questo non si scorge e l'aspetto del contenuto cellulare è affatto uniforme.

Nervi perifici. — I cilindrassi delle fibre nervose sono tutti ben coloriti e splendenti. La mielina in alcune fibre si presenta di aspetto uniforme e circonda tutto intorno il cilindrasse. (Fig. 21 e 22.) In altre fibre poi la mielina non ha questo aspetto omogeneo, ma si presenta sotto forma di grossi granuli staccati l'uno dall'altro, più lunghi in senso raggiato al taglio trasversale della fibra. (Fig. 21.) Nelle fibre che presentano la mielina così granulosa, essa è tinta in giallastro e così pure è tinta in altre fibre in cui essa non è granulosa, ma omogenea; però in queste ultime di solito essa, con le sostanze coloranti carminiche, assume un colore roseo chiaro.

Terminazioni nervose. — Tanto le piastre motrici (Fig. 26) quanto i corpuscoli muscolo-tendinei di Golgi sono normali.

Osservazione II. — Coniglio del peso di gr. 1460, i pezzi del sistema nervoso vennero presi e fissati 4 ore dopo morte.

Nel *cervello* nel *cervelletto* non trovasi nulla di diverso da quello ch'è stato osservato nel precedente esame.

Bulbo. — Le cellule nervose presentano gli stessi caratteri notati per il bulbo precedente, medesimamente dicasi per le fibre nervose. Parecchie cellule della nevroglia però presentano il nucleo assai pallidamente colorato: il protoplasma di esse è granuloso.

Midollo spinale. — Le cellule nervose danno a vedere gli stessi fatti già descritti per il midollo fissato subito appena ucciso l'animale. Le cel-

lule della nevroglia qua e là presentano protoplasma granuloso, pallido, ridotto qualche volta ad una piccola zonula circondante il nucleo.

Le fibre nervose presentano gli stessi caratteri notati nel precedente esame. Lo stesso dicasi per le cellule dei *gangli intervertebrali.*

Il canale midollare ha epitelio normale; la sua cavità è in parte cosparsa di una sostanza granulosa e in mezzo ad essa si vede qualche nucleo.

Per i *nervi periferici* e le *terminazioni nervose* il risultato di questo esame non varia punto da quello ottenuto nella osservazione precedente.

Osservazione III. — Coniglio del peso di gr. 1305, gli organi nervosi furono presi e fissati 8 ore dopo morte.

Cervello. — Nella sostanza grigia si vedono in buon numero cellule nervose normali. Altre poi se ne vedono con protoplasma granuloso e accumulato in maggior quantità verso il centro o verso un lato della cellula, il nucleo in esse è ben conservato, solo qualche volta non si vede.

Si osservano poi parecchie altre cellule, che hanno protoplasma jalino, nucleo quasi sempre ben manifesto, a volte si scorge soltanto un punto lucente: il nucleolo.

Si riscontrano infine cellule attorno al cui protoplasma si sono formate cavità chiare di varia forma. Nella sostanza bianca si osservano gli stessi fatti descritti per il cervello della osservazione precedente.

Cervelletto. — La rarefazione del protoplasma in una buona parte delle cellule dello strato molecolare è alquanto più cospicua che nei cervelletti della I e della II osservazione; in qualcuna di siffatte cellule il nucleo non si vede. Molto più manifesta è questa rarefazione del protoplasma in quelle cellule rotonde che stanno attorno alle cellule del Purkinje. In alcune cellule del Purkinje poi (molte sono ancora del tutto normali) si notano vani piuttosto grandi, rotondeggianti, che più spesso si trovano da un solo lato alla periferia della cellula; alcune altre di queste cellule del Purkinje presentano protoplasma granuloso; il nucleo in esse il più delle volte è ben visibile, il tronco dei prolungamenti protoplasmatici si vede bene. In alcune cellule dello strato dei granuli si osserva disgregamento granulare del protoplasma. Lo stesso dicasi per le cellule della nevroglia dello strato midollare; le fibre nervose di esso si conservano normali e ben colorate.

Bulbo. — Le cellule nervose in buon numero sono normali. Alcune invece danno a vedere protoplasma di color pallido, finamente granuloso: i prolungamenti protoplasmatici pure sono granulosi e come tumidi, il nucleo e il nucleolo a volte sono ben visibili e a volte non si distinguono.

In altre cellule poi il protoplasma è molto granuloso ed ora è uniformemente sparso per tutta la cavità cellulare, ora invece trovasi in maggior copia attorno al nucleo, il quale però qualche volta non si scorge.

In altre cellule infine si notano alla periferia del protoplasma cavità chiare rotondeggianti ed ovali.

Le fibre nervose in parecchi punti, specialmente alla periferia del bulbo, sono colorate meno intensamente che nel resto, tuttavia sono ancora ben distinte.

In questi punti e anche in quelli in cui la colorazione delle fibre è ben netta, si nota in qualcuna di esse, sibbene raramente, la presenza di qualche vanetto chiaro posto tra i cilindrassi e la guaina della fibra.

Midollo spinale. — Molte cellule (specialmente delle corna anteriori) presentano caratteri normali, altre no: di queste ultime, alcune hanno protoplasma finamente granuloso, con tinta pallida; esso è sparso uniformemente per tutta la cavità cellulare, il nucleo quasi sempre si vede bene: altre poi presentano protoplasma un po' grossolanamente granuloso e non uniformemente sparso nella cavità cellulare, ma in maggior copia raccolto attorno al nucleo, che qualche volta è sbiadito molto e può trovarsi posto o in centro alla cellula o perifericamente. Infine si osservano cellule sul cui contorno trovansi spazi vuoti, chiari, di varia conformazione.

I cilindrassi delle fibre nervose sono normali; solo in quelle fibre che stanno verso la periferia del midollo (in una zona circolare piccola) essi hanno preso una tinta sbiadita. Questa differenza di colorito si nota in maniera più cospicua nei cordoni posteriori lungo tutto il loro margine esterno e nei due margini che limitano il solco longitudinale posteriore.

Delle cellule della nevroglia alcune sono del tutto normali, altre presentano una forte rarefazione del protoplasma, tanto da rimanere solo pochi granuli superstiti sparsi qua e là nel cavo cellulare: il nucleo è evidente in alcune, in altre non si vede.

La cavità del canale midollare è piena di granuli e vedesi raramente qualche nucleo: l'epitelio è normale.

Gangli interbertebrali. — La maggior parte delle cellule nervose sono normali; solo poche lasciano vedere cavità a semiluna o ellissoidi poste alla periferia del protoplasma tra esso e la capsula; il nucleo e il nucleolo quasi sempre sono ben evidenti. In alcune cellule poi il protoplasma presentasi jalino e il nucleo qualche volta non si vede.

Nei *nervi periferici* non si scorge nulla di diverso da ciò che si è visto nei nervi delle precedenti osservazioni.

Le *terminazioni nervose* sono normali.

Osservazione IV. — Coniglio del peso di gr. 1150; i pezzi da esaminare furono presi e fissati 12 ore dopo morte.

Cervello. — Si ha lo stesso risultato, che si è avuto nell'osservazione precedente, soltanto nel cervello ora in esame si nota il fatto, che alcune cellule grandi, rotonde, presentano il protoplasma disposto a reticolo, con fili molto granulosi; il nucleo in esse quasi sempre è ben distinto.

All'esame del *cervelletto* si notano gli stessi risultati ottenuti in quello precedente.

Bulbo. — Nulla di diverso da quello notato nel bulbo del precedente esame riguardo alle cellule nervose.

La nevroglia non è ben evidente: i nuclei delle cellule si vedono ancora discretamente bene, ma del protoplasma non restano che pochi granuli.

Le alterazioni delle fibre nervose, notate nel precedente bulbo, si osservano anche in questo; ma inoltre, nel bulbo presente si riscontrano alcune fibre, che appariscono alquanto ingrandite, sicchè la loro guaina limita una cavità piuttosto grande; il cilindrasse si presenta come un piccolo punto lucente, addossato alla parete della cavità della fibra e da esso spicca e si espande dentro tale cavità come un alone di sostanza finamente granulosa di color roseo. Questa alterazione si riscontra soltanto in poche fibre e specialmente in quelle situate più perifericamente nel bulbo e che sono di dimensioni più piccole delle altre poste internamente.

Midollo spinale. — Le cellule nervose presentano quelle stesse cavità già descritte negli ultimi esami, che precedono; però s'incontrano con maggior frequenza (ma relativamente a quelle normali sono sempre poche) le cellule aventi protoplasma granuloso, accumulato in maggior quantità attorno al nucleo.

In molte cellule della nevroglia si vedono ancora pochi granuli di protoplasma: il nucleo è ben distinto quasi in tutte.

Nelle fibre nervose si scorgono modificazioni degne di nota: alcune di esse, cioè, si vedono ingrandite, come rigonfie; il cilindro dell'asse ora è ridotto a pochi granuli splendenti addossati da una parte alla periferia della fibra, ed ora è ridotto ad una massetta di color sbiadito, che occupa gran parte del tubo mielinico, il quale, come si è detto, è ingrandito. Queste fibre così alterate si osservano principalmente verso le parti più esterne della sostanza bianca e più specialmente nei cordoni posteriori.

L'epitelio del canale centrale è un po' torbido, i nuclei però sono ben distinti. La cavità è piena di granulazioni grossolane e qualche nucleo scorgesi in mezzo ad esse qua e là in alcune sezioni.

Gangli intervertebrali. — In alcune cellule si vede il protoplasma accumulato, in forma di zona anulare, attorno al nucleo, di guisa che rimane tra la capsula cellulare e il protoplasma uno spazio chiaro. Per lo più il nucleo in queste cellule è ben conservato. In altre cellule poi si osserva protoplasma granuloso, sbiadito; per lo più il nucleo in esse non si vede, qualche volta si scorge il nucleolo soltanto.

Nervi periferici. — In parecchie fibre nervose la mielina ha preso un colore roseo uniforme e in mezzo ad essa o non si distingue affatto o risalta appena il cilindrasse; di modo che, nel primo caso, si ha dentro la fibra una massa omogenea. In queste stesse fibre spesso si notano vani chiari, rotondi, che stanno in mezzo a quella sostanza rosea, omogenea, e, se il cilindrasse vi si distingue ancora, a volte esso stesso è intaccato da questi vani.

Le *Terminazioni nervose* sono normali

Osservazione V. — Coniglio del peso di gr. 1060; i pezzi da esaminare furono presi e fissati 16 ore dopo morte.

Cervello. — Si osservano cellule nervose grandi rotondeggianti o a forma di pera con protoplasma jalino; il nucleo ora manca ed ora è ben distinto. Si trovano poi cellule nervose, le quali presentano delle cavità sferiche od ovoidali o di altra configurazione, sul contorno del protoplasma. Infine vi sono cellule con protoplasma fortemente granuloso e non uniformemente sparso nella cavità cellulare. Tanto nella sostanza grigia quanto nella bianca si notano molte cellule piccole rotonde, nelle quali non esiste più traccia di protoplasma, al cui posto rimane uno spazio vuoto; alle volte manca pure il nucleo, altre volte si vede soltanto un piccolissimo cumulo di granuli protoplasmatici: in alcune di tali cellule dal detto cumulo si vede partire qualche filo granuloso, che va a toccare il contorno della cellula.

Nella sostanza bianca le fibre nervose si vedono distintamente, il piccolo cilindrasse di esse è ben colorato.

Cervelletto. — Nello strato molecolare si riscontrano piuttosto frequentemente cellule con protoplasma granuloso, spesso ridotto ad una sottile zonula circondante il nucleo, quando questo, come il più delle volte avviene, è visibile ancora. Nelle cellule del Purkinje, alla periferia del protoplasma, si scorgono delle grandi cavità di forma variabile; i prolungamenti protoplasmastici non si vedono bene; il nucleo talvolta è sbiadito, tal'altra non si vede affatto. In qualcuna di queste cellule riscontrasi inoltre protoplasma fortemente granuloso. Molte delle cellule rotonde, che stanno attorno a quelle del Purkinje, presentano protoplasma molto granuloso, in alcuni poi esso è del tutto scomparso; il nucleo qualche volta si vede ancora, qualche altra volta manca; in talune esso si presenta come un piccolo intreccio di sottili filamenti, costituiti da granuli finissimi molto sbiaditi. Le cellule dello strato dei granuli presentano pure rarefazione del protoplasma; ma questa rarefazione poi si riscontra più accentuata nelle cellule gliomatose dello strato midollare.

Le fibre nervose sono ben conservate.

Bulbo. — Si vedono alcune cellule nervose molto grandi, che hanno protoplasma jalino, sbiadito; il nucleo in alcune è ben visibile, in altre non si vede; i prolungamenti protoplasmatici si scorgono poco e i monconi che restano evidenti sono molto grossi. Si riscontrano poi molte altre cellule, che hanno protoplasma granulosamente disgregrato, e i granuli sono accumulati in maggor copia verso il centro della cellula, attorno al nucleo, se questo vi è. In altre cellule si notano le solite cavità multiple alla periferia del protoplasma. In mezzo a queste cellule così alterate però se ne vedono ancora parecchie del tutto normali.

La tumefazione delle fibre nervose e la disgregazione dei cilindrassi, già notate nella osservazione del bulbo precedente, sono più progredite, si vedono infatti fibre nervose molto ingrandite; il contorno di ciascuna di queste fibre limita una grande cavità, in parte vuota, in parte riempita dal cilindro dell'asse, che ora presentasi finamente e uniformemente gra-

nuloso, come una nubecola in mezzo al cavo della fibra, ora è ridotto ad un corpicciuolo lucente, piccolo assai, addossato, in un punto, alla parete della fibra, e da esso si espande verso il cavo della fibra stessa una sostanza finamente granulosa, quasi amorfa, di color sbiadito. Siffatta alterazione delle fibre nello esame del bulbo precedente, come si è detto, si riscontrava in modo più accentuato e quasi esclusivo nelle fibre piccole di quei fasci posti alla periferia del bulbo, e non si osservava affatto in quel voluminoso fascio di grosse fibre posto ai lati del rafe mediano (campo motorio di Meynert); nel bulbo ora in esame invece anche le fibre nervose di questo fascio presentano tale alterazione, ma molto radamente e in un grado iniziale.

Midollo spinale. — Le cellule nervose hanno le stesse apparenze di quelle osservate nel midollo precedente.

Le alterazioni delle fibre nervose, già notate nel midollo della osservazione, che precede, sono in questo midollo, per grado o per estensione, più accentuate. Nel presente midollo buona parte dei cordoni posteriori (sempre però più marcatamente nelle zone periferiche di essi) è presa dal processo, che si estende pure manifestamente nei cordoni laterali e anteriori. Come si è detto, l'alterazione consiste in un ingrandimento totale della fibra nervosa, che viene a limitare col suo contorno una cavità bastantemente ampia, entro alla quale si vede il cilindrasse alterato in modo variabile; esso in alcune di queste fibre si presenta spezzettato in tanti granuli lucenti che a volte formano un piccolo cumulo laterale e a volte sono irregolarmente disseminati (Fig. 15, 17) e qualche volta ancora sono disposti a semiluna: in altre di queste fibre esso cilindrasse è ridotto ad un punto lucente, situato perifericamente sul contorno della fibra, e da esso si espande a guisa di nubecola, una sostanza tenue, finamente granulosa, che assume configurazione variabilissima. (Fig. 14.) In altre fibre infine il cilindrasse è ridotto ad una fine nubecola, che occupa in buona parte la cavità della fibra (Fig. 14, 15, 16, 17.) Raramente poi in qualche fibra nervosa si scorge qualche vanetto, che alcuna volta intacca anche il cilindro dell'asse. (Fig. 14 v.)

La nevroglia e il canale centrale presentano gli stessi caratteri già notati nello esame del midollo precedente.

Mediante la colorazione col metodo di Weigert si osserva che le fibrille, le quali attraversano, formando dei fasci, la sostanza grigia, invece di presentarsi in forma di fili regolari uniformemente grossi, come normalmente, presentano una forma nodosa, come a corona di rosario.

Nei *gangli intervertebrali* si riscontrano gli stessi fatti della osservazione precedente.

Nervi periferici. — Si riscontrano gli stessi fatti notati nei nervi della osservazione precedente; però in questi, che si esaminano adesso quei vanetti, che riscontravansi principalmente nelle fibre la cui mielina assume una tinta violetta uniforme, e il cilindrasse vi è poco o punto distinto

(Fig. 24), sono cresciuti di numero, e inoltre in alcune fibre essi vani si vedono formati dentro il cilindrasse stesso. (Fig. 28.)

Le *terminazioni nervose* sono normali.

Osservazione VI. — Coniglio del peso di gr. 1090, gli organi nervosi sono stati presi e fissati 20 ore dopo morte.

Nel *cervello* si ripetono gli stessi fatti notati nell'esame del cervello precedente.

Cervelletto. — Nello strato molecolare trovansi cellule con protoplasma disgregato, granuloso e rarefatto, e cellule con cavità periferiche multiple o isolate; nelle prime, il nucleo, insieme con quel po' di protoplasma, che lo circonda, è posto in mezzo al cavo cellulare; nelle seconde esso si trova di lato più frequentemente e qualche volta manca. Molte altre cellule poi non dimostrano alterazione veruna. Le cellule del Purkinje non presentano bene evidenti i prolungamenti protoplasmatici; in alcune di esse si osservano cavità grandi intorno al protoplasma. Molte delle cellule rotonde, che si ritrovano attorno a quelle del Purkinje, hanno perduto intieramente il protoplasma e spesso anche il nucleo, e non resta perciò altro che l'impronta della cellula. In alcune di queste cellule poi del nucleo non si scorge che un piccolo cumulo di fili finamente granulosi, pallidi. Nello strato dei granuli si vedono cellule con protoplasma granuloso; così pure nello strato midollare in cui si osservano inoltre cellule quasi del tutto mancanti del protoplasma. Le piccole fibre nervose di questo strato si mantengono benissimo e i cilindrassi sono ben distinti e colorati.

Bulbo. — Alcune cellule si presentano ancora di aspetto normale; altre danno a vedere spazi rotondi o ellissoidi, posti sul contorno del protoplasma; si osservano ancora cellule grosse, con protoplasma jalino, e in queste qualche volta non si discerne il nucleo; inoltre si vedono con frequenza cellule con protoplasma fortemente granuloso, accumulato, come già si è detto, in maggior copia attorno al nucleo.

Le alterazioni delle fibre nervose — già descritte nell'esame del bulbo precedente — vanno sempre più estendendosi, tanto che in quei fasci di fibre, che nel bulbo si travano più perifericamente situati, sono relativamente pochissime le fibre rimaste normali. Ma anche nelle grosse fibre del campo motorio di Meynert il processo di alterazione si estende, però si può dire che in esso sono relativamente pochissime le fibre alterate. Si incontrano inoltre con discreta frequenza fibre nervose nelle quali si notano spazietti chiari rotondi (vacuoli).

La struttura della nevroglia è poco distinta; le cellule non presentano quasi più traccia di protoplasma; il nucleo in alcune si vede bene, in altre rimane soltanto un piccolo cumulo di fili granulosi.

Midollo spinale. — Le cellule nervose addimostrano i medesimi caratteri di quelle del midollo dell'osservazione precedente.

L'alterazione delle fibre nervose è molto accentuata; essa non si li-

mita più, come nei midolli precedenti, alle sole fibre poste in quella zona periferica, come allora è stata descritta, e ai cordoni posteriori principalmente; ma va estendendosi sempre più verso il centro e in tutti i cordoni del midollo: e si riscontrano fibre nervose alterate anche fra quelle poste vicinissime alla sostanza grigia. (Fig. 7 fn.) Questa alterazione delle fibre consiste, come si è detto, in un ingrandimento totale di esse: i cilindrassi sono alterati in vario modo; in alcune fibre difatti esso è ridotto ad un piccolo punto lucente, addossato al contorno della fibra, come schiacciato, in altre desso è molto lungo in senso traverso, foggiato a semicerchio e addossato con la parte convessa alla periferia della fibra, da esso poi emana una sostanza finamente granulosa, che si diffonde nel cavo della fibra medesima. In alcune altre fibre infine il cilindrasse è grossolanamente granuloso e i granuli sono più fittamente disposti verso un lato della fibra.

La nevroglia ha una struttura grossolana e sembra come porosa. Le cellule quasi tutte hanno perduto affatto il protoplasma, e il nucleo spesso è ridotto ad un piccolo ammasso di esili fili granulosi e pallidi.

L'epitelio del canale centrale è alquanto opaco e interrotto in parecchi punti. La cavità è piena di granuli e in alcune sezioni scorgesi qualche nucleo.

Nei *nervi periferici* non si osserva nulla di diverso da quanto è stato notato nei nervi dell'osservazione precedente.

Le *terminazioni nervose* sono normali.

Osservazione VII. — Coniglio del peso di gr. 1150: i pezzi sono stati fissati 24 ore dopo morto.

Cervello. — Si incontrano molte cellule nervose (specialmente nelle parti più superficiali della sostanza grigia), delle quali alcune hanno protoplasma jalino, altre granuloso; il nucleo in esse frequentemente è ben distinto, ma qualche volta non si vede; in molte di quelle cellule aventi protoplasma granuloso, questo è molto scarso e i granuli assai radamente sparsi nel cavo cellulare: in alcune di dette cellule i granuli sono radi più specialmente nella parte periferica del corpo della cellula. Queste cellule presentano un solo prolungamento protoplasmatico, che è grosso e granuloso. Inoltre si vedono numerose cellule nervose attorno al cui protoplasma esistono cavità rotonde od ovali o semilunari. Si osservano infine molte cellule rotonde, piccole, che non presentano quasi affatto protoplasma, e del nucleo spesso non resta visibile che un piccolo corpicciuolo fatto a reticolo, sbiadito: in alcune di esse poi il nucleo manca del tutto.

Le fibre nervose della sostanza bianca sono ben distinte e nettamente colorate.

Nel *cervelletto* si osservano gli stessi fatti già notati pel cervelletto dell'osservazione precedente.

Lo stesso dicasi per il *bulbo*, soltanto c'è da aggiungere, che ora appare più progredita l'alterazione di quelle grosse fibre che formano il campo motorio di Meynert.

Midollo spinale. — Le cellule nervose quasi tutte presentansi alterate e più specialmente nelle sezioni della parte più bassa del midollo, in vicinanza della coda equina, dove si stenta a trovare qualche cellula, che presenti aspetto normale. L'alterazione più cospicua, che si nota in queste cellule, è la disgregazione granulare del protoplasma: i granuli protoplasmatici poi, dispongonsi in maggior copia attorno al nucleo, (Fig. 7 e 8), se esso trovasi ancora, e, se vi manca, dessi sono tuttavia più agglomerati verso le parte centrale del cavo cellulare. Spesso poi i granuli protoplasmatici sono in quantità così esigua, che il nucleo, se si trova ancora, resta quasi libero nella cavità della cellula: in alcune poi si vede solo un punto lucente ch'è il nucleolo (Fig. 7). Oltre a ciò alcune cellule si presentano come rigonfie con prolungamenti protoplasmatici o affatto mancanti o corti e tozzi: il protoplasma ha aspetto jalino (Fig. 6).

Lo stroma della sostanza grigia, presentasi qua e là screpolato e di aspetto granuloso (Fig. 6).

Le cellule della nevroglia in buon numero non hanno più nucleo, o di esso non rimane altro che una piccola massa filamentosa, costituita di esili fili intrecciati, finamente granulosi e sbiaditi.

Le fibre nervose presentano in grado più avanzato le alterazioni già descritte nel precedente midollo.

L'epitelio del canale midollare ha aspetto torbido, con nuclei non ben colorati, ed è discontinuo in più punti. La cavità è in parte occupata da detriti granulosi; raramente vi s'incontra qualche nucleo.

Gangli intervertebrali. — Le capsule delle cellule gangliari sono evidenti; l'endotelio anch'esso è ben visibile. Il protoplasma delle cellule nervose in alcune è normale, occupa intieramente il cavo cellulare; il nucleo vi si distingue bene. In altre cellule invece esso protoplasma è distaccato dalla capsula in parecchi punti per modo che all'esterno di esso rimangono, tutt'in giro, tanti spazi chiari. In altre cellule attorno al protoplasma retratto si vede uno spazio chiaro, circolare, come un anello che intercede tra esso e la parete interna della capsula endoteliale; il nucleo in queste cellule ora è ben distinto, ora non si vede. Vi sono inoltre cellule nelle quali il protoplasma è sbiadito, granuloso e talvolta riempie tutta la cavità cellulare, tal'altra soltanto parte di essa; il nucleo in alcune si vede abbastanza bene, in altre non si discerne affatto.

Nervi periferici. — Tanto in quelle fibre nervose con mielina granulosa e di colore giallastro, quanto in quelle con mielina omogenea e colorata in violetto, i cilindrassi sono pochissimo distinti. Inoltre in questo esame sono in gran numero le fibre, in cui non si scorge altro che una massa colorata uniformemente in scuro, e in esse si vedono ancora quei vanetti, già notati nei nervi della osservazione precedente.

Terminazioni nervose. — Ad un mediocre ingrandimento nell'insieme l'aspetto delle terminazioni nervose (sia corpuscoli del Golgi, sia piastre motrici) è normale; ma ad un forte ingrandimento nelle piastre motrici si

nota che l'intreccio terminale (che risulta di fili amielinici), non ha aspetto normale, in quanto che in molte di esse si scorge che i sottili tratti di unione del filo terminale sono scomparsi e restano solo gl'ingrossamenti come tanti nodetti staccati, che appariscono alquanto più grossi del normale e più rotondeggianti. I corpuscoli muscolo-tendinei appaiono normali anche a forte ingrandimento.

Osservazione VIII. — Coniglio del peso di gr. 1185; i pezzi vennero fissati 28 ore dopo morte.

Cervello. — Si osservano cellule con protoplasma jalino, sbiadito; cellule, che presentano cavità di varia forma sul contorno del protoplasma; inoltre sono assai numerose le cellule, che hanno protoplasma molto granuloso, e i granuli di esso alle volte sono disposti in maggior copia attorno al nucleo, altre volte invece sono accumulati maggiormente alla periferia della cellula, in modo da rimanere uno spazio chiaro circolare sul contorno del nucleo. Sono poi numerosissime le cellule piccole, rotonde, in cui non vedesi più traccia di protoplasma, e il nucleo, o vi manca del tutto, o vi è rappresentato da un piccolo intreccio di fili esili e pochissimo colorati.

Le fibre della sostanza bianca sono normali. Col metodo di Weigert i fascetti di fibrille traversanti la sostanza grigia appariscono rigonfi e granulosi, contrariamente a ciò che appariva nei cervelli presi poco tempo dopo morte, in cui esse fibrille avevano aspetto regolare e liscio.

Cervelletto. — Nello strato molecolare non notasi nulla di diverso da quello, che si è notato nel cervelletto precedente; lo stesso dicasi per le cellule del Purkinje: le cellule rotonde poi, che stanno intorno a queste, hanno quasi tutte perduto intieramente il protoplasma e in alcune inoltre, del nucleo non è rimasto che un gruppetto di granuli disposti a reticolo, molto pallidi. Nello strato dei granuli parecchie cellule presentano al posto del protoplasma una cavità anulare e così pure quelle dello strato midollare, nel quale poi le piccole fibre nervose sono bene evidenti e colorate.

Bulbo. — Parecchie cellule sono ancora normali: se ne vedono poi altre attorno al cui protoplasma si sono formati spazi vuoti. Inoltre se ne riscontrano altre grosse con protoplasma jalino, e in queste pure si riscontrano qualche volta cavità alla periferia del protoplasma. Sono poi numerose quelle in cui il protoplasma è granuloso, e i granuli ora sono soltanto accumulati attorno al nucleo, ora invece uniformemente disseminati nella cavità cellulare: spesso il nucleo manca in queste cellule e manca pure, ma con minore frequenza, nelle cellule con protoplasma jalino.

Le cellule della nevroglia non hanno più quasi alcuna traccia di protoplasma e il nucleo è rappresentato da un piccolo cumulo di granuli pallidissimi.

Nelle fibre nervose non vedesi nulla di diverso da quello notato nel bulbo precedente.

Midollo spinale. — Le cellule nervose presentano le stesse alterazioni viste nello esame del midollo precedente: lo stesso dicasi per la nevroglia.

Le fibre nervose mostrano in grado più avanzato la stessa alterazione, che è stata descritta per le fibre dei midolli ultimi precedenti con tutte quelle varietà di forma delle fibre alterate, che in quelli si riscontravano; in questo midollo però si vedono inoltre alcune fibre, rarissime, in cui il cilindrasse alterandosi, ha preso una forma anulare ed è disperso tutt'attorno sulla periferia del cavo della fibra, ch'è ingrossata, e forma in tal modo come un cercine, posto concentricamente al contorno interno della guaina della fibra nervosa.

La cavità del canale centrale in gran parte è piena di granuli e in alcune sezioni vedesi qualche nucleo. L'epitelio è torbido; i nuclei sono poco colorati.

Nervi periferici. — Oltre i fatti, già notati nei nervi della precedente osservazione, in questi si osservano alcune fibre, il cui cilindrasse è granuloso e posto di lato nel cavo della fibra; inoltre esso è ingrandito e di forma irregolare. In altre fibre poi si vede una cavità, nella quale non è dato distinguere il cilindrasse; ma si vede una massetta di fini granuli sbiaditi; e dentro queste massette si vedono vacuoli.

Terminazioni nervose. — Nelle piastre motrici si osservano gli stessi fatti descritti nella osservazione precedente: i corpuscoli muscolo-tendinei sono ancora inalterati.

Osservazione IX. — Coniglio del peso di gr. 1160, i pezzi furono fissati 32 ore dopo morte.

Cervello. — In riguardo alle cellule, l'esame di questo cervello offre i medesimi risultati, notati nel cervello dell'osservazione precedente.

Nelle fibre nervose della sostanza bianca notasi un fatto nuovo; qualcuna delle piccole fibre nervose infatti vedesi ingrossata, il cilindrasse è granuloso e addossato da banda sul contorno interno della fibra medesima. Questo stesso fatto notasi nelle fibre dello strato midollare del *cervelletto*, nel quale del resto, in quanto alle cellule, si ha lo stesso risultato del cervelletto precedente.

Bulbo. — Si vede ancora qualche cellula nervosa che presenta caratteri normali, specialmente in mezzo ai fasci di quelle grosse fibre nervose che formano il campo motorio di Meynert. Le altre si presentano quali con protoplasma jalino, quali con spazi vuoti qua e là intorno al protoplasma, ma sopratutto sono numerosissime le cellule, che hanno protoplasma granuloso, disgregato e scarso, non rimanendo spesso che una piccola zona di granuli attorno al nucleo.

Per la nevroglia non c'è da aggiungere nulla a quanto si è detto per il bulbo precedente.

Nelle fibre nervose si rileva, che l'alterazione (quale è stata descritta pel bulbo precedente) è più estesa.

Midollo spinale. — L'esame delle cellule nervose dà lo stesso risul-

tato di quello, già visto per il midollo precedente; soltanto nel midollo attuale, sono più numerose le cellule con protoplasma granuloso, scarso, ridotto non infrequentemente a pochi granuli, che sono disposti in maggior copia attorno al nucleo, se questo c'è ancora, e se manca, essi tuttavia formano un piccolo cumulo situato per lo più al centro del cavo della cellula.

L'alterazione delle fibre nervose, che già è stata notata nei precedenti midolli, si vede nel midollo attuale più estesa tanto nei cordoni posteriori quanto in quelli laterali e anteriori.

Ripeto ancora, che verso la parte più interna della sostanza bianca, in tutti i cordoni, l'alterazione ha preso fino a questo momento un piccolo numero di fibre; nelle parti più esterne invece sono relativamente poche quelle fibre, che si presentano inalterate.

La nevroglia e il canale centrale presentano gli stessi fatti, già detti per l'esame precedente.

Gangli intervertebrali. — Le cellule di questi gangli non sono gran fatto diverse da quelle descritte nei gangli fissati 24 ore dopo morte (*osservazione* VI).

Nei *nervi periferici* e nelle *terminazioni nervose*, si hanno gli stessi risultati dell'osservazione precedente.

Osservazione X. — Coniglio del peso di gr. 1245; i pezzi vennero fissati 36 ore dopo morte.

All'esame del *cervello* si ottiene risultato analogo e quello ottenuto all'esame del cervello precedente.

Cervelletto. — Nello strato molecolare si vedono numerose cellule, che non hanno più protoplasma o vi rimangono soltanto pochi granuli: in molte di queste cellule, il nucleo non si vede, o si riscontra al posto di esso un gruppetto di fili finamente granulosi e pallidi. In siffatta guisa poi sono alterate quasi tutte le cellule rotonde, che stanno attorno alle cellule del Purkinje; le quali, invece, non mostrano caratteri differenti, da quelle osservate nel cervelletto precedente: lo stesso dicasi per le cellule dello strato dei granuli.

Nello strato delle fibre si trovano cellule alterate in modo analogo a quelle dello strato molecolare. S'incontrano inoltre qua e là fibre nervose ingrandite col cilindrasse spostato da banda e dal quale si diparte una sostanza amorfa o finamente granulosa, come una nubecola, che si spande nella cavità ingrandita della fibra.

Bulbo. — Riguardo alle cellule nervose non si osserva nulla di diverso da quello, che si è notato esaminando il bulbo precedente.

Quanto alle fibre nervose si nota, che l'alterazione di esse (in questo bulbo) è abbastanza estesa anche nel fascio di grosse fibre, che scorre ai lati del rafe mediano (campo motorio di Meynert), nel qual fascio del resto ancora un buon numero di fibre presentano aspetto normale. In tutti gli altri fasci l'alterazione è avanzatissima; in molte fibre è sparito del tutto

il cilindrasse e non si vede altro che una grande cavità rotondeggiante, chiara, che rappresenta la fibra nervosa. In alcune fibre (specialmente in quelle del campo motorio di Meynert) il cilindrasse alterato ha preso una forma circolare ed è disposto come un anello dentro la cavità della fibra, lasciando uno spazio rotondo nel mezzo.

Nel *midollo spinale* si osservano i medesimi fatti, notati per quello dell'osservazione precedente.

Gangli intervertebrali. — Parecchie cellule di questi gangli sono normali, soltanto esse appariscono meno colorate dell'ordinario; in altre poi, il protoplasma è distaccato dal contorno interno della capsula e si è retratto, lasciando una cavità anulare alla periferia; il nucleo ora è palese, ora no. Vi sono inoltre cellule con protoplasma granuloso, sbiadito; spesso prive di nucleo.

Nei *nervi periferici* e nelle *terminazioni nervose* si notano gli stessi fatti, già osservati nell'esame precedente, solo c'è da dire che in questa osservazione anche i corpuscoli muscolo-tendinei del Golgi si presentano alterati in quella stessa maniera, come è stata descritta per le piastre motrici delle osservazioni precedenti.

Osservazione XI. — Coniglio del peso di gr. 1130; i pezzi vennero fissati 40 ore dopo morte.

Cervello. — Si trovano cellule nervose con cavità di varia forma sul contorno del protoplasma: in altre cellule poi il protoplasma è granuloso e scarso, accumulato più spesso in maggior copia attorno al nucleo, quando esso, come avviene raramente, esiste; i prolungamenti protoplasmatici sono granulosi, grossi e corti. Si osservano inoltre molte cellule rotonde, piccole, che hanno completamente o quasi perduto il loro protoplasma; il nucleo spesso è ridotto ad un piccolissimo cumulo di fili esili e pallidi; in qualche cellula poi esso non si vede affatto: in alcune di queste cellule rotonde e piccole il protoplasma è granuloso e rarefatto, ma il nucleo vi si conserva bene.

Cervelletto. — Si riscontrano gli stessi fatti dell'osservazione precedente, ma un po' più progrediti, tanto nello strato molecolare quanto in quello midollare, tanto nelle cellule del Purkinje quanto in quelle rotonde, che stanno attorno ad esse. Nello strato dei granuli poi, molte cellule presentano il nucleo assai pallido, e intorno ad esso un anello chiaro, che occupa tutto il cavo della cellula, disseminato di pochissimi granuli protoplasmatici.

Bulbo. — Si vedono ancora cellule nervose normali, ma pochissime. Le altre presentano alcune cavità rotonde od ellissoidi alla periferia del protoplasma; altre hanno protoplasma jalino, nucleo a volte ben distinto altre volte no. Sopratutto poi sono numerose le cellule con protoplasma granuloso, scarso, di frequente ridotto ad una piccola massetta circondante il nucleo, che il più delle volte si ritrova, ma in alcune cellule manca.

Nelle fibre nervose l'alterazione, che ha sempre i caratteri già descritti, è più estesa che nei bulbi ultimi esaminati.

Midollo spinale. — Si notano cellule nervose, che hanno sul contorno del protoplasma cavità di varia forma; inoltre sonvi cellule con protoplasma jalino, pallido, con nucleo ora ben distinto ed ora no; finalmente sono molto numerose le cellule con protoplasma granuloso, accumulato verso il centro o di lato della cellula sempre attorno al nucleo, quando questo si discerne.

Per le fibre nervose risultano un poco più progredite le alterazioni, che già sono state descritte in quelle delle ultime osservazioni.

La nevroglia ha struttura grossolanamente granulosa, le cellule si distinguono poco.

L'epitelio del canale centrale è torbido, discontinuo qua e là. La cavità è ripiena di granuli e vedesi di rado qualche nucleo.

Gangli intervertebrali. — Quasi tutte le cellule di questi gangli hanno protoplasma molto sbiadito, alquanto granuloso, nucleo poco o punto visibile. Alcune cellule poi, pure presentando i caratteri detti testè, lasciano inoltre scorgere una zona anulare periferica tra il protoplasma, che si è retratto, e la capsula della cellula.

Nervi periferici. — Si vedono moltissime fibre, in cui non è dato di scorgere che una massa omogenea uniformemente tinta in violetto scuro; in queste fibre, come in quelle simili degli esami precedenti, si vedono vani chiari rotondi: vacuoli. Altre fibre poi non si rivelano che per una cavità piuttosto grande, rotondeggiante, che attesta della loro esistenza: in molte altre fibre infine si vedono numerosi granuli sbiaditi, che formano una massetta dentro la fibra, e in essa si vedono vacuoli: rara è quella fibra che ha aspetto normale (Fig. 25).

Nelle *terminazioni nervose* non osservasi nulla di diverso da quello, che si è notato nell'ultimo esame.

Osservazione XII. — Coniglio del peso di gr. 1500; i pezzi vennero fissati 44 ore dopo morte.

Cervello. — I caratteri che presentano le cellule della sostanza grigia, sono simili a quelli riscontrati nello esame precedente; lo stesso può dirsi per le cellule e le fibre della sostanza midollare. Osservata la sostanza cerebrale nel suo insieme, a un mediocre ingrandimento, appare grossolanamente granulosa, porosa.

All'esame del *cervelletto* si ripetono gli stessi risultati già descritti nell'esame precedente.

Bulbo. — Non riscontrasi nulla di nuovo, per quanto si riferisce alle cellule. La nevroglia è granulosa, porosa. Le fibre nervose sono estesamente alterate anche nel campo motorio di Meynert.

Col metodo di Weigert, si vede distintamente l'aspetto nodoso, come a corona di rosario, delle fibrille sottili, che, a fascetti, scorrono nei nuclei di sostanza grigia.

Nel *midollo spinale* si vedono alquanto più progredite le alterazioni, già descritte precedentemente. Lo stesso dicasi per i *nervi periferici* e le *terminazioni nervose*.

Osservazione XIII. — Coniglio del peso di gr. 1325; i pezzi furono fissati 48 ore dopo morte.

Cervello. — Le cellule, che presentano cavità sul contorno del protoplasma sono poche: invece sono numerossime quelle aventi protoplasma granuloso, di cui però non rimangono che pochissimi granuli, per lo più accumulati attorno al nucleo, che spesso però non si vede, e i granuli protoplasmatici, in questo caso, sono ora sparsi disordinatamente dentro il cavo della cellula ed ora riuniti in gruppo, situato alle volte in mezzo alla cellula ed altre volte di lato. In molte cellule rotonde e piccole il protoplasma e il nucleo sono scomparsi o, al posto di quest'ultimo, rimane soltanto un piccolissimo intreccio di fili esilissimi. Queste alterazioni si trovano tanto nelle cellule della corteccia quanto in quelle dei nuclei grigi. In una sola cellula di questo cervello è stato riscontrato un piccólo vano chiaro rotondo, dentro il nucleo, il quale del resto era uniformemente e distintamente colorato.

Le fibre della sostanza bianca sono ben colorate e solo poche qua e là presentansi ingrandite con cilindrasse granuloso irregolare, spostato lateralmente sul contorno della cavità della fibra.

Cervelletto. — Nello strato molecolare e in quello dei granuli, in modo più evidente, si hanno le stesse alterazioni notate già nell'ultima osservazione. Le cellule del Purkinje presentano protoplasma granuloso, nucleo poco distinto, spesso anche esso non si vede. Nello strato midollare le cellule presentano le stesse alterazioni, che già sono state descritte nell' altro esame.

Riguardo poi alle fibre nervose si nota, che in questo esame sono alquanto più frequenti quelle, che hanno cilindrasse granuloso disposto a semiluna sul contorno della cavità della fibra ingrandita.

Bulbo. — Sono numerose le cellule con protoplasma fortemente granuloso e rarefatto, tanto che nella maggior parte di esse si trovano pochi granuli protoplasmatici attorno al nucleo, quando questo si scorge ancora. In altre cellule però i granuli protoplasmatici sono rari, ma uniformemente sparsi per tutta la cavità cellulare.

Si vedono poi alcune cellule grosse con protoplasma pallido, vitreo; il nucleo in queste, quando vi si trova, risalta molto, appunto per la leggera tinta del protoplasma.

Molte altre cellule presentano cavità di varia forma e grandezza, situate o da un lato solo o da più lati, alla periferia del protoplasma.

Le fibre nervose sono alterate sempre nel medesimo modo già descritto, ma l'alterazione è più estesa anche nelle fibre del campo motorio di Meynert, nel quale del resto una buona parte di esse sono normali ancora.

Le cellule della nevroglia non si scorgono, e la struttura di essa è granulosa, porosa.

Nel *midollo spinale* si notano le stesse alterazioni descritte nell'esame che precede. Lo stesso dicasi per i *gangli intervertebrali* e i *nervi periferici*.

Terminazioni nervose. — Sia nei corpuscoli muscolo-tendinei come nelle piastre motrici, si nota sempre più manifesto il fatto della frammentazione del filo cilindrassile, spoglio di mielina, costituente l'intreccio terminale, di guisa che si trovano tanti tronchicini staccati, (Fig. 27 e 28), e non più collegati gli uni gli altri e formanti un intreccio omogeneo, uniforme.

Osservazione XIV. — Coniglio del peso di gr. 1495; i pezzi vennero fissati 52 ore dopo morte.

Per il *cervello*, il *cervelletto* e il *bulbo* si notano gli stessi fatti esposti avanti, nell' ultimo esame.

Midollo spinale. — Le cellule nervose mostransi quasi tutte alterate. Ve ne sono bensì alcune, che assumono uniformemente la sostanza colorante e riempiono per intiero la cavità cellulare, però esse sono affatto prive di prolungamanti protoplasmatici o vi sono cortissimi e tozzi (Fig. 10); spesso il nucleo non si scorge affatto. Si vedono poi alcune cellule, che hanno una o più cavità rotonde, chiare sul contorno del protoplasma (Fig. 10). Infine una gran parte delle cellule fanno vedere in grado molto accentuato il disgregamento granulare del protoplasma con rarefazione di esso (Fig. 9 e 10); i prolungamenti protoplasmatici sono affatto spariti. In alcune cellule il protoplasma é granuloso e rarefatto, ma i granuli di esso non costituiscono, come nelle precedenti, una massetta, che occupa ora la parte centrale ora un lato delle cellule, bensì sono disseminati uniformemente nel cavo cellulare, e in mezzo ad essi qualche volta vedesi ancora il nucleo.

Delle fibre nervose soltanto poche presentano caratteri quasi normali, ed esse trovansi nelle parti più interne dei cordoni in prossimità della sostanza grigia. Le altre tutte sono in modo accentuato alterate nel vario modo descritto nelle precedenti osservazioni; ma sopratutto incontransi con frequenza fibre nervose assai grandi aventi il cilindrasse ridotto ad un piccolo punto lucente, posto di lato sul contorno interno della cavità della fibra e da esso si espande come una nubecola granulosa dentro la fibra stessa. (Fig. 18, 19, 20.)

Il canale centrale mostra l'epitelio rotto in parecchi punti e di aspetto torbido. La cavità è piena di granuli e qua e là vedesi qualche nucleo.

Nei *nervi periferici* e nelle *terminazioni nervose* non vedesi nulla di diverso da quanto si è notato negli ultimi esami.

Osservazione XV. — Coniglio del peso di gr. 1210; i pezzi vennero fissati 56 ore dopo morte.

Nel *cervello, cervelletto, bulbo* e *midollo spinale* si vedono gli stessi fatti già descritti negli ultimi esami.

Gangli intervertebrali. — Le cellule di questi gangli sono tinte pallidamente; alcune di esse poi riempiono tutta la cavità, altre invece lasciano uno spazio vuoto molto grande tra la capsula e il protoplasma, che si è retratto; tanto in queste quanto in quelle il nucleo manca spesso; nelle ultime inoltre il protoplasma spesso è granuloso e rarefatto.

Nei *nervi periferici* si notano sempre gli stessi fatti, detti negli ultimi esami.

Terminazioni nervose. — Nelle piastre motrici si vede ancora l'impronta della terminazione, ma l'intreccio di essa è poco evidente, perchè costituito non più da fili intieri, omogenei, colorati in nero, ma da tronchicini spezzati, staccati. Nei corpuscoli di Golgi scorgonsi i grossi tronchi in cui dividesi il cilindrasse dopo il suo strozzamento (nel qual punto perde la mielina) e poi si vedono granuli rotondeggianti, piuttosto grossi, scarsi di numero ed isolati. Tanto questi quanto i grossi tronchi, detti avanti, sono qua e là di aspetto finamente polveroso.

II. — Risultato dell' esame di quei sistemi nervosi fissati iu alcool assoluto.

Osservazione I. — Coniglio del peso di gr. 1860: i pezzi vennero fissati subito dopo morte.

Cervello. — Le cellule nervose appaiono piccole e presentano protoplasma ben colorato, in mezzo a cui risalta molto bene il nucleo; sul contorno del protoplasma, per lo più da un lato solo, si vede un piccolo spazio stretto lineare. Nella sostanza bianca si vedono pochi nuclei, in mezzo ad un tessuto uniforme, avente struttura trabecolare.

Cervelletto. — Nello strato molecolare notasi qualche cellula con protoplasma granuloso e alcune con una cavità periferica lineare: i nuclei in tutte sono benissimo distinti. Delle cellule del Purkinje buon numero mostrano protoplasma granuloso in tutto o soltanto in parte, da un lato solo della cellula; il nucleo qualche volta in queste cellule non si vede; in quelle poi che hanno protoplasma soltanto in parte granuloso, da quella stessa parte il nucleo è pure granuloso e poco colorato, mentre nel resto è omogeneo e colorato intensamente. Nello strato dei granuli e in quello midollare non si vede nulla di anormale.

Le fibre non si distinguono, ma al posto di esse si osserva un tessuto trabecolare.

Bulbo.— Delle cellule nervose, alcune occcupano tutta la cavità cellulare ed hanno protoplasma uniforme o striato, nucleo, nucleolo e prolungamenti protoplasmatici ben distinti. Altre cellule presentano sul contorno del protoplasma una cavità stretta lineare molto piccola; il nucleo e il nucleolo sono ben distinti e così pure i prolungamenti protoplasmatici.

I cilindrassi delle fibre nervose sono bene evidenti, però essi per lo più non si trovano centralmente situati dentro la fibra, ma sono posti di lato.

Midollo spinale. — In molte cellule nervose il protoplasma ha struttura striata, il nucleo, il nucleolo e i prolungamenti protoplasmatici sono bene evidenti; nessuno spazio rimane perifericamente al protoplasma. In altre cellule invece sul contorno del protoplasma si nota uno spazietto lineare. In altre infine il protoplasma è intensamente colorato, i prolungamenti si vedono poco e il nucleo spesso non si scorge.

Le fibre nervose presentano il cilindrasse ben distinto, collocato eccentricamente sul contorno del cavo della fibra.

L'epitelio del canale centrale è intatto. Dentro la cavità si vedono disseminati dei granuli piccoli; nessun nucleo.

Gangli intervertebrali. — La maggior parte delle cellule di questi gangli presentano protoplasma uniformemente colorato, e riempiono tutta la cavità cellulare, hanno nucleo e nucleolo ben distinti. In alcune altre poi si vede il protoplasma distaccato dalla capsula, in guisa che rimane una spazio vuoto fra questa e il protoplasma; il nucleo e il nucleolo sono ben distinti. In altre cellule infine il protoplasma è alquanto granuloso e il nucleo non sempre si vede bene.

Osservazione II. — Coniglio del peso di grammi 1390; i pezzi furono fissati 8 ore dopo morte.

Cervello. — Quanto agli elementi nervosi non si trova niente di diverso da quello, ch'è stato notato nello esame del cervello precedente.

Di nuovo qui si osserva nella sostanza cerebrale la presenza di cavità grandi, alcune visibili anche ad occhio nudo, di forma rotondeggiante con contorno per lo più regolare; ma in alcune di esse e specialmente nelle più piccole esso contorno è irregolare, come sfrangiato. Queste cavità trovansi esclusivamente nella sostanza grigia della corteccia e qualcuna si trova immediatamente sotto la pia meninge, la quale qualche volta è spinta in fuori e protubera. Tutti questi spazi vuoti sparsi nella sostanza cerebrale danno a questa un aspetto cribroso: *état criblè.*

Dentro tali cavità sono contenuti corpicciuoli grandi e piccoli, rotondi, che si colorano intensamente in turchino con la ematossilina e in roseo pallido col carmallume, e sono specialmente situati sul contorno delle suddette cavità.

Dei suddetti corpicciuoli rotondi, colorati intensamente in turchino con l'ematossilina, se ne vedono dappertutto, nel cervello, nel bulbo, nella midolla spinale e nei nervi periferici. Se ne trovano inoltre in grande quantità dentro il canale centrale del midollo fino ad otturarlo, e se ne osservano anche all'esterno della sostanza nervosa poggianti su di essa o sulla meninge molle. Ma sopratutto questi corpicciuoli sono numerosi e aggruppati attorno ai vasi sanguigni, specie a quelli più piccoli.

Questi corpi si riscontravano anche in tutti gli organi del sistema ner-

voso del precedente coniglio, nel quale essi vennero estratti dall'animale e immersi nell'alcool subito dopo morte.

Però essi si trovano soltanto in questi organi nervosi, fissati in alcool e mai in quelli fissati con liquido di Müller e poi lavati nella serie degli alcools. Ho cercato di cimentare questi corpi con qualcuna delle reazioni (tintura di jodio e liquido di Lugol) specifiche della sostanza amiloide, ma il risultato fu sempre negativo, di guisa che essi corrispondono ai corpuscoli amilacei, che sono stati descritti da diversi autori e si incontrano spesso quando si ha occasione di esaminare organi nervosi fissati in alcool.

Nel *cervelletto* non si discerne nulla di diverso da quello detto nell'esame che precede.

Bulbo. — Le cellule mostransi invariate da quello, ch' erano nel precedente esame.

Le fibre nervose sono quasi dappertutto poco distinte; il cilindrasse non si vede quasi più. Però si distinguono ancora bene le grosse fibre di quel fascio, che scorre ai lati del rafe mediano (campo motorio di Meynert).

Si vedono poi qua e là aree rotonde, chiare, in cui il tessuto è come rarefatto, a struttura trabercolare, e il contorno di queste aree è limitato da un cerchio fortemente colorato, in cui il tessuto è molto denso. Inoltre si vede qua e là qualche piccolo vuoto.

Midollo spinale. — Delle cellule nervose, alcune hanno protoplasma striato, che riempie tutta la cavità cellulare, i nuclei e i prolungamenti protoplasmatici sono ben distinti. In altre cellule trovasi attorno al protoplasma uno spazietto lineare chiaro, il quale è interrotto in corrispondenza dei prolungamenti protoplasmatici. Il protoplasma di queste cellule inoltre è alquanto granuloso; ch'è poco manifesto. In altre ancora il protoplasma è molto granuloso e di colore sbiadito, uniformemente sparso per tutta la cavità cellulare, il nucleo in alcune di queste cellule è ben visibile, in altre non si vede, i prolungamenti protoplasmatici non si scorgono più.

Nella sostanza bianca risalta subito una larga zona periferica (che prende tutti i cordoni) di aspetto reticolare. In questa zona si vedono con difficoltà pochi cilindri dell'asse e tutti spostati e accollati alla parete della fibra, ch' è molto ingrandita.

I due solchi longitudinali, anteriore e posteriore non sono più ben distinti in tutta la loro estensione; ma nella parte più esterna il posteriore e nella parte media l'anteriore non si distinguono più, poichè le fibre di un lato sono promiscue con quelle dell'altro lato.

Internamente alla zona periferica descritta testè, havvene un' altra, che va fino alla sostanza grigia, in cui le fibre nervose si mantengono bene, il cilindrasse è ben visibile ma non sta nel centro della fibra, bensì trovasi spostato di lato.

L'epitelio del canale centrale è normale, ma in qualche punto è di-

scontinuo. Dentro la cavità di esso notansi grosse granulazioni e raramente qualche nucleo in alcune sezioni; inoltre si trova qualche brandello dell'epitelio, che si è distaccato e le cui cellule sono ancora intatte.

Osservazione III. — Coniglio del peso di gr. 1750: i pezzi vennero fissati 16 ore dopo morte.

Cervello. — Le cellule sono in gran parte ben distinte; alcune di esse però presentano il protoplasma non colorato ugualmente, ma in parte (per lo più di un lato solo) si vede granuloso e scolorato; il nucleo in queste cellule, da quella parte che guarda il protoplasma così granuloso e scolorato, è pure esso sbiadito e granuloso. In altre cellule poi attorno al protoplasma osservasi una cavità lineare o leggermente ellissoide piccolissima.

Le cavità, già notate nel precedente cervello, si trovano ancora in questo e cogli stessi caratteri: *etat criblè.* (Fig. 11.)

Cervelletto. — Nello strato molecolare si notano alcune cellule (le più piccole) che hanno il protoplasma ridotto a pochissimi granuli attorno al nucleo. Nelle cellule del Purkinje i prolungamenti non si vedono, il protoplasma in molte di esse è granuloso; qualche volta non scorgesi il nucleo. In qualcuna di queste cellule poi si osserva protoplasma granuloso, accumulato attorno al nucleo, in maniera che all'esterno resta un vuoto semicircolare o circolare. Nello strato dei granuli si vede una grande quantità di nuclei e null'altro è distinguibile. Nello strato midollare si osserva un tessuto uniforme con struttura reticolare, e qua e là si vedono nuclei sparsi. Nello strato molecolare e in quello dei granuli, vedonsi delle cavità rotondeggianti, in tutto simili a quelle già viste nel cervello: *stato cribroso.*

Bulbo. — Molte cellule presentano protoplasma leggermente striato; nucleo e prolungamenti protoplasmatici ben mantenuti. In altre invece il protoplasma è granuloso; il nucleo manca spesso e i prolungamenti protoplasmatici non si vedono. In molte altre poi si vede il protoplasma granuloso e alla periferia di esso esiste una cavità stretta lineare, il nucleo spesso è scomparso e i prolungamenti protoplasmatici ridotti a corti monconi.

Delle fibre nervose sono distinguibili soltanto quelle del campo motorio di Meynert. In alcune di queste però il cilindrasse, che, come in tutte le altre, è spostato alla periferia della fibra, è ridotto ad un piccolo punto lucente, da cui si diparte una sostanza omogenea o granulosa, che si espande nel cavo ingrandito della fibra stessa. In altre poi esso cilindrasse è grosso, tumefatto e sbiadito.

Midollo spinale. — Si vedono parecchie cellule con cavità circolare, periferica, interrotta solo nei punti di uscita dei prolungamenti protoplasmatici, che ora si arrestano sul contorno della cavità cellulare, ed ora si prolungano anche fuori. In altre poi la cavità è da un lato solo della cellula. Vedonsi inoltre cellule con protoplasma granuloso, di color pallido,

disposto in maggior copia attorno al nucleo. La cavità cellulare in alcune di queste cellule è occupata tutta dal protoplasma cosiffattamente granuloso, in altre invece resta all'esterno una cavità piccola anulare. In alcune di queste cellule il nucleo si vede bene, in altre non si vede, o scorgesi soltanto il nucleolo.

I cilindrassi delle fibre nervose si vedono con molta difficoltà, specie in quella zona periferica descritta nel precedente esame e che in questo è ancora più estesa profondamente. I solchi longitudinali, anteriore e posteriore, sono quasi scomparsi in alcune serie di sezioni; in altre si vedono per brevissimo tratto in vicinanza delle due commessure (anteriore e posteriore) della sostanza grigia; e in questi punti i due lati dei cordoni che delimitano il solco sono molto allontanati fra loro, tanto da formare una cavità grande di forma ellissoide.

L'epitelio del canale centrale è normale; in alcune sezioni esso è in parte caduto. La cavità è cosparsa di granuli e raramente incontrasi qualche nucleo.

Osservazione IV. — Coniglio del peso di gr. 1245; i pezzi vennero fissati 24 ore dopo morte.

Cervello. — Si riscontrano parecchie cellule nervose con cavità lineare sul contorno del protoplasma; altre hanno protoplasma granuloso e i granuli sono agglomerati in maggior copia attorno al nucleo e sono più radi verso la periferia del cavo cellulare. Il nucleo alle volte pure è granuloso, raramente manca.

Le cavità, che si cominciavano a vedere fino nel cervello preso e fissato dopo 8 ore dalla morte, nel presente sono numerosissime, di varie forme, allungate, rotonde, periformi, ovoidali, ecc., ora a contorni lisci, ora sfrangiati; contengono qualche volta anche detriti di sostanza nervosa con cellule, oltre i corpi rotondi già descritti, colorabili intensamente in turchino con l'ematossilina (corpuscoli amilacei). La grandezza di queste cavità è variabile, se ne osservano di piccolissime, invisibili ad occhio nudo e di grandi quasi come un piccolo grano di miglio. Molte di tali cavità sono contigue e separate da sepimenti più o meno sottili. Desse sono più numerose nella sostanza grigia corticale, ma se ne riscontrano anche nelle parti più profonde e qualcuna persino nella sostanza bianca.

Cervelletto. — In riguardo alle cellule si ha lo stesso risultato dello esame precedente.

Le piccole cavità, che notavansi in quello, negli strati molecolare e dei granuli, in questo sono molto più numerose, più grandi e qualcuna se ne vede anche nello strato delle fibre. Questo strato presenta ancora più manifesta la struttura reticolare, nella quale si scorgono radi nuclei.

Bulbo. — Si ha lo stesso risultato dello esame precedente per quanto si riferisce alle cellule e alle fibre nervose. In questo bulbo però è molto evidente la formazione di cavità grandi (a gruppetti di 2–3) sparse in vari punti del bulbo. Queste cavità sono ora perfettamente vuote, ed ora con-

tengono corpicciuoli rotondi (corpuscoli amilacei) in tutto simili a quelli descritti nell'esame del cervello. Queste cavità sono visibili anche ad occhio nudo; il contòrno di esse ora è liscio, ora in qualche punto irregolare.

Midollo spinale. — Molte cellule hanno protoplasma granuloso e rarefatto; esso non riempie tutta la cavità cellulare, ma lascia alla periferia degli spazi chiari più o meno grandi. I prolungamenti protoplasmatici sono però ancora ben visibili in alcune cellule e possono accompagnarsi anche fuori della cavità cellulare. Il nucleo più di frequente è ben distinto; raramente non si vede.

Per le fibre nervose notansi gli stessi fatti dell'esame precedente. Lo stesso dicasi per il canale midollare.

Al posto del solco longitudinale posteriore notasi una cavità grande, ellissoide limitata, in avanti dalla commessura posteriore, indietro dagli estremi dei due cordoni posteriori, che si toccano; lateralmente dai due margini interni, discosti molto l'uno dall'altro, di essi cordoni.

Osservazione V. — Coniglio del peso di gr. 1460; i pezzi vennero fissati 32 ore dopo morte.

All'esame del *cervello* si notano gli stessi fatti osservati per il cervello precedente.

Lo stesso dicasi per il *cervelletlo.*

Bulbo. — In molte cellule nervose il protoplasma riempie tutta la cavità cellulare; i prolungamenti sono poco manifesti, il nucleo è ben mantenuto. Altre cellule presentano protoplasma granuloso; i prolungamenti poco o niente visibili, il nucleo qualche volta scomparso e alla periferia del protoplasma, da uno o più lati, si vede una cavità allungata, piccola, lineare.

Le fibre nervose si distinguono ancora discretamente nel campo motorio di Meynert; molte di esse però sono ingrandite e il cilindrasse è spostato di lato. In tutto il resto le fibre non si distinguono più e al loro posto non rimane che una rete a larghe maglie.

Le cavità, già notate nei bulbi precedenti, si vedono ancora in questo e sono alquanto più numerose.

Midollo spinale. — Alcune cellule nervose presentano una cavità circolare più o meno grande, che resta alla periferia; il protoplasma è granuloso e accumulato verso la parte centrale attorno al nucleo, quando questo esiste; in altre cellule questo spazio periferico non è esteso a tutto il contorno, ma è limitato ad una metà o poco più della periferia della cellula e il protoplasma perciò trovasi addossato da una parte. In alcune di queste cellule i prolungamenti non si vedono più; in altre invece esistono ancora, ma sono brevi.

L'alterazione nelle fibre nervose è molto estesa, poichè quella zona periferica, stretta della sostanza bianca — già descritta nei midolli della osservazioni precedenti e nella quale le fibre non si distinguono affatto e rimane un tessuto con struttura trabecolare — in questo midollo non è

[illegible] della sc[illegible]

[illegible]

[illegible] in gran parte [illegible] e in qualche [illegible]

Osservazione VI. — [illegible]

Cervello. — Anche in questo esame si vedono cellule con cavità [illegible] protoplasma; inoltre si trovano cellule con protoplasma granuloso rarefatto; questi granuli, che rimangono come residui di esso protoplasma, sono accumulati in maggior quantità attorno al nucleo.

Le cavità [illegible] la sostanza cerebrale sono numerosissime e alcune sono grandemente dilatate; qualcuna si trova proprio dentro la sostanza bianca. Queste cavità hanno i medesimi caratteri di quelle già descritte negli altri esami; qui trovasi però il contorno di esse più frequentemente sfrangiato e molte comunicano fra loro. Fig. 12.

Tutta la sostanza cerebrale presentasi inoltre come granulosa porosa.

Cervelletto. — Le cellule del Purkinje presentano una forma piuttosto rotondeggiante. Il protoplasma di esse è pallido; i prolungamenti non si vedono; spesso il nucleo è scomparso. Nulla di diverso dall'ultimo esame scorgesi nelle altre cellule.

Le cavità, che si trovano disseminate nella sostanza grigia, in questo esame sono numerose e più ampie di quello che non fossero negli altri esami; e, come quelle, sono ora vuote affatto ed ora contengono alcuni di quei corpiccinoli rotondi, colorati in turchino con l'ematossilina.

Bulbo. — Le cellule si presentano, alcune con cavità allungata stretta alla periferia del protoplasma; altre con protoplasma granuloso e rarefatto; in parecchie il nucleo non si vede.

Le fibre nervose non si distinguono più quasi dappertutto e al loro posto si trova un tessuto uniforme trabecolare; solo qualche fibra si vede ancora nel campo motorio di Meynert, ed è assai ingrandita, con cilindrasse granuloso e spostato da canto.

Quelle cavità, che già sono state notate nei bulbi precedenti, in questo sono più numerose e più grandi.

Midollo spinale. — I prolungamenti protoplasmatici delle cellule non sono più visibili quasi in tutte, solo in alcune si notano delle prominenze con cui il protoplasma tocca il contorno della cavità cellulare; in pochissime questi prolungamenti si vedono bene e si accompagnano fuori del contorno della cellula. Il protoplasma in tutte è granuloso e rarefatto: spesso è ridotto ad un piccolo gruppo di granuli circondanti il nucleo, che in alcune cellule è ben visibile, in altre è scomparso.

Delle fibre nervose se ne vedono ancora poche in vicinanza della so-

stanza grigia e in esse i cilindrassi sono grossi e sbiaditi. Nel resto non si vede che un tessuto trabecolare.

Il canale centrale presenta gli stessi caratteri descritti nel precedente esame.

Gangli intervertebrali. — Alcune cellule di questi gangli si presentano ancora discretamente conservate; altre fanno vedere tutt'intorno tra la capsula e il protoplasma, una cavità anulare; il nucleo in esse frequentemente si vede bene. Altre cellule poi hanno protoplasma grossolanamente granuloso, sbiadito e accumulato in maggior quantità verso la parte centrale attorno al nucleo, se questo c'è; ma esso per lo più non si vede.

Riassunto

Prima di riassumere i fatti risultanti dallo esame microscopico, debbo tener parola dei caratteri, che presentano gli organi nervosi esaminati ad occhio nudo, subito dopo di averli tolti dall'animale. Questi organi nervosi (cervello, cervelletto, bulbo, midollo spinale) se vengono estratti subito dopo ucciso l'animale, o a distanza di poche ore, si presentano normalmente resistenti e consistenti al tatto. Il loro colore è normale e si distingue bene la sostanza grigia dalla bianca: al taglio si ottiene una superficie netta, liscia. Ma se questi organi nervosi sono cavati molto tempo dopo la morte dell'animale, allora si mostrano poco resistenti, cedevoli ed eccessivamente molli: la sostanza nervosa appare di colore uniformemente bianco-sporco ed è impossibile distinguere la sostanza grigia dalla bianca. Tale impossibilità persiste tuttavia, dopo che gli organi nervosi sono stati induriti col liquido di Müller e lavati nella serie degli alcools; solo nei tagli fatti col microtomo si riesce a far bene la distinzione fra le due sostanze anche ad occhio nudo.

Tagliando un organo nervoso fresco, la superficie di sezione presentasi perfettamente piana e liscia; mentre se l'organo norvoso sezionato è stato tolto molte ore dopo morte, la superficie del taglio è convessa, esuberante, irregolare e la lama del coltello porta seco parte di sostanza nervosa.

A cagione di queste alterazioni grossolanamente apparisceuti sono stato costretto ad immergere gli organi nervosi nel liquido fissatore intieri ed avvolti ancora dalle meningi, divi-

dendo soltanto il midollo spinale dall'encefalo. Però ho operato in simile maniera tanto per quegli organi nervosi presi appena morto l'animale, quanto per quelli presi molte ore dopo, sicchè il processo d'indurimento venne fatto in tutti gli esperimenti nella stessa guisa.

Cervello

Nel cervello preso subito dopo ucciso l'animale e indurito in liquido di Müller, la nevroglia presenta una struttura uniforme, regolare, normale: mano mano poi che il numero delle ore trascorse, dal momento della morte dell'animale a quello in cui l'organo venne fissato, cresce, la nevroglia presenta un aspetto grossolanamente granuloso e poroso. Le cellule della nevroglia nel cervello preso e fissato appena ucciso l'animale, sono affatto normali; quelle invece dei cervelli presi alcun tempo dopo la morte presentano protoplasma scarso, progressivamente granuloso e in stadii molto avanzati non se ne scorge più traccia. Sovente il nucleo in esse è rappresentato da una piccola massa di esili fili granulosi, pallidissimi; spesso ancora esso non si scorge punto.

La maggior parte delle cellule nervose del cervello preso subito dopo morte hanno caratteri affatto normali: in alcune poi si vede protoplasma sbiadito, jalino, e in altre esso è finamente granuloso ed uniformemente distribuito nel cavo cellulare: soltanto in poche di queste i granuli protoplasmatici sono più scarsi da un lato della cellula: finalmente in alcune cellule si osserva sul contorno del protoplasma la presenza di cavità piccole, chiare, rotondeggianti od ellissoidi (vacuoli). — Il nucleo si scorge bene in tutte le cellule, tranne in quelle con protoplasma jalino ed in quelle altre con protoplasma granuloso, in cui qualche volta esso manca e a volte si scorge soltanto il nucleolo.

A misura che si progredisce nel periodo di ore trascorse dalla morte dell'animale alla fissazione dell'organo, si nota che le cellule aventi protoplasma jalino e quelle con vacuoli sul contorno di esso, si riscontrano presso a poco sempre nelle

medesime proporzioni, di quello che esse erano nel cervello, preso appena ucciso l'animale: diventano invece numerose le cellule con protoplasma granuloso, e non già con granulazioni fini, bensì a grossi granuli, che non sono uniformemente distribuiti dentro il cavo cellulare o più radi soltanto da un lato della cellula; essi invece si trovano aggruppati e situati o nel mezzo, o di lato, nella cavità cellulare e circondano il nucleo, se questo esiste ancora. La quantità di questi granuli va grado grado facendosi più scarsa, di modo che in alcune cellule in fine essi sono affatto mancanti e non rimane che la nicchia cellulare vuota. Il nucleo in alcune di queste cellule manca affatto, in altre si vede soltanto un piccolo gomitolo di fili molto pallidi. Lo stesso fatto — della riduzione del protoplasma in grosse granulazioni con graduale diradamento di queste — avviene, come si è visto, ma più precocemente nelle cellule della nevroglia.

Nei cervelli presi molte ore dopo la morte dell'animale e fissati con alcool assoluto, si vedono pure molte cellule con protoplasma granuloso e accumulato verso il centro del cavo cellulare, attorno al nucleo, se questo si vede ancora. Cellule con protoplasma jalino non se ne trovano, invece se ne vedono alcune, che presentano una cavità intorno al protoplasma, ma dessa è allungata, lineare, piccolissima, non però rotondeggiante come quelle dei cervelli induriti in liquido di Müller.

Riassumendo dunque: in riguardo alle cellule, si può ritenére come alterazione cadaverica la disgregazione granulare del protoplasma con rarefazione e financo scomparsa totale di esso. I granuli protoplasmatici vanno diradandosi progressivamente dalla periferia verso il centro della cellula fino a tanto che a volte essi scompaiono affatto, anche prima del nucleo (la qual cosa avviene molto frequentemente nelle cellule della nevroglia), che, rimanendo così isolato dentro la cellula, è costituito per lo più da un intreccio di esili filamenti, come è stato descritto prima; altre volte invece un piccolo cumulo di granuli protoplasmatici persiste ancora dentro la cavità cellulare, dopo la scomparsa del nucleo.

L' aspetto jalino, vitreo, che presentano alcune cellule (le

quali appariscono inoltre leggermente tumefatte), ritengo sia un prodotto artificiale, dovuto cioè all'indurimento dell'organo nel liquido di Müller. Difatti cellule di aspetto jalino, vitreo si trovano tanto nei cervelli fissati poco tempo dopo la morte dell'animale, quanto in quelli fissati molte ore dopo: cellule con questi caratteri poi non si trovano mai nei cervelli fissati con alcool assoluto.

La presenza di qualche cavità (vacuolo) di forma rotondeggiante attorno al protoplasma di alcune cellule (vacuolizzazione periferica), a mio avviso si deve ritenere come prodotto artificiale, dovuto cioè all' indurimento nel liquido di Müller; difatti questi vacuoli si trovano tanto in cellule di cervelli fissati subito dopo morte, quanto in quelle di cervelli fissati molte ore dopo la morte dell' animale, e al contrario non si rinvengono mai in quegli altri cervelli fissati in alcool assoluto.

Nei cervelli fissati in alcool è stata descritta col nome di *état-criblè* la presenza di cavità di varia dimensione esistenti dentro la sostanza cerebrale. Queste cavità si trovano quasi esclusivamente nella sostanza grigia e proprio nella parte più superficiale di essa (fig. 11); soltanto in quei cervelli fissati molte ore dopo la morte dell' animale, esse si trovano più profondamente situate (fig. 12) e qualcuna perfino nella sostanza bianca. Tali cavità, è stato detto, cominciano a farsi vedere nei cervelli tolti dall'animale e fissati otto ore dopo la morte di esso e sono in numero scarso, ma si presentano più numerose e di maggiore grandezza (fig. 11 e 12) in quei cervelli tolti e fissati molte ore (32, 40) dopo la morte.

Ho voluto designare quest'alterazione col nome di *stato cribroso* (*état criblè*) soltanto perchè così si esprime molto bene il fatto notato, ma se si tien conto del significato di tale denominazione, quale s' intende comunemente, non sarebbe esatto adottarla nel caso mio. Infatti Durand-Fardel ([1]), che adoperò pel primo la frase *état-criblè*, intese di designare con essa quell' alterazione della *sostanza bianca* del cervello, per cui essa as-

([1]) Durand-Fardel, *Traité des maladies des viellards*, 1854, pag. 5.

sume l'aspetto di un crivello, perchè disseminata di fori piccoli e grandi, rotondeggianti.

Invece nelle mie ricerche non la sostanza bianca si presentava disseminata di grandi e piccoli fori rotondeggianti, bensì la sostanza grigia.

Per spiegare l' origine dello stato cribroso della *sostanza bianca* cerebrale sono state emesse varie opinioni: il Bizzozzero [1] ritiene, che lo stato cribroso derivi da una dilatazione delle guaine linfatiche dei vasi sanguigni; l'Arndt [2] ritiene sia dovuto a dilatazione degli spazii linfatici perivascolari di Hiss, i quali è dimostrato, che non esistono; il Vassale [3] infine crede « che lo stato cribroso del cervello non rappresenti altro « che una speciale alterazione della guaina mielinica delle « più grosse fibre nervose della sostanza bianca ».

Nessuna delle suddette interpretazioni mi sembra adatta a spiegare il fatto da me osservato.

A me pare che lo stato cribroso, che constatai nella « sostanza grigia », sia un prodotto artificiale e cadaverico insieme, dovuto cioè all' azione disidratante energica dell'alcool assoluto da un lato e dall' altro al processo di colliquazione, in preda al quale si trovano gli organi nervosi dopo un certo tempo dalla loro morte.

A giustificare questa interpretazione concorre il fatto, che lo stato cribroso non si riscontra mai nei cervelli induriti nel liquido di Müller, anche se tolti dall'animale lungo tempo dopo la sua morte, e invece lo si riscontra in quei cervelli tolti parecchie ore dopo morte e fissati in alcool assoluto. D'altro canto poi si nota che in un cervello preso subito dopo ucciso l'animale e fissato con alcool assoluto, lo stato cribroso non si produce.

Ritengo infine che si debba considerare come alterazione cadaverica quell' aspetto granuloso, con screpolature qua e

---

(1) BIZZOZZERO, *Alcune alterazioni dei linfatici del cervello e della pia madre.* (Rivista clinica di Bologna, 1868, pag. 33.)

(2) ARNDT, *Ueber den* état criblè. (Virch. Arch. 63. pag. 241 e Zeitschrift. f. Psych. 31 pag. 712.)

(3) G. VASSALE, *Lo stato cribroso del cervello.* (Rivista sperim. di Freniatria e Med. leg., vol. 17, fascic. 4°, 1891.)

là (fig. 6, 9, 12), che assume la sostanza nervosa tanto del cervello, quanto del cervelletto e della midolla spinale, se presi e fissati vuoi in liquido di Müller, vuoi in alcool assoluto dopo molte ore dalla morte dell' animale.

Mi resta tener parola dei *corpuscoli amilacei* che, come dissi, ho riscontrato in tutti gli organi nervosi fissati in alcool e sì di quelli presi subito dopo morte, come di quelli presi a distanza di molte ore. Il Vassale nella memoria citata (*Lo stato cribroso del cervello*) dice, che i fori esistenti nella sostanza bianca e che dànno l' *état criblè*, non erano vuoti, ma riempiti di una speciale sostanza, che si presentava in forma di globetti sferoidali. Questi globetti per i caratteri, che il Vassale riferisce descrivendoli, corrispondono perfettamente sotto certi rapporti ai corpuscoli amilacei. Infatti egli dice che essi « corpi roton-« deggianti di aspetto omogeneo » non si colorano, se gli organi nervosi sono induriti in liquido di Müller, e da parte mia posso dire di non aver mai riscontrato i detti corpuscoli negli organi nervosi induriti con quel liquido e poi lavati nella serie degli alcools. Ma inoltre il Vassale asserisce, che « la colora-« zione di detti corpi non riesce più, se lo stesso pezzo per « essere sezionato, viene incluso in celloidina: » perciò i corpuscoli descritti dal Vassale non corrispondono più a quelli riscontrati nelle mie osservazioni, perocchè io ho sempre incluso i pezzi in celloidina e ciò non ostante, la colorazione dei corpuscoli (almeno per l'ematossilina e pel carminio) è sempre ben riuscita.

Di più il Vassale dice, che egli « non ha mai potuto con sicu-« rezza notare rapporto dei detti corpi splendenti coi vasi san-« guigni: che in fine tali corpi si trovano di regola non nella « sostanza grigia, ma nella sostanza bianca del cervello e pre-« feribilmente nel corpo striato e nel ponte ». Io invece ho potuto constatare che questi corpuscoli hanno costantemente rapporto coi vasi sanguigni, attorno ai quali si trovano agglomerati in grande quantità; che essi corpuscoli si rinvengono in tutti gli organi nervosi (compresi i nervi periferici) e sono ugualmente sparsi così nella sostanza grigia, come nella bianca. Se ne trovano inoltre fuori del tessuto nervoso, come nel canale

centrale del midollo spinale, che alle volte è occluso completamente dai detti corpuscoli, e così pure se ne trovano aderenti alla faccia esterna della pia meninge.

Nelle mie osservazioni ho visto che i detti corpuscoli non riempivano mai quelle cavità costituenti lo « stato cribroso del cervello », bensì essi si trovavano in alcune soltanto e neppure in grande numero: quando esistono, stanno di preferenza allineati sul contorno della cavità (fig. 12). Secondo il Ceci (¹) i corpuscoli amilacei formano dei cumoli negli spazi linfatici perivascolari.

Pur non dividendo l'opinione del Ceci, che i detti corpuscoli si trovino negli spazii linfatici perivascolari, poichè è dimostrato, che questi spazii non esistono, tuttavia posso affermare anch' io, che i corpuscoli amilacei si accumulano attorno ai vasi sanguigni.

Secondo quest'osservatore i corpuscoli amilacei non reagiscono alla tintura di iodio e al liquido di Lugol come la sostanza amiloide, la qual cosa posso confermare.

Non sono in grado di dire se essi, come ha visto il Ceci, si colorino in nero con l'acido osmico, perchè non ho provata questa reazione; posso invece confermare la doppia refrazione di essi nei preparati fissati con alcool, come vide il Ceci.

Per tutti questi caratteri risalta subito una grande analogia tra i corpuscoli amilacei e la mielina, dalla quale il Ceci ritiene che si originino, e spiega il processo di loro formazione con fatti puramente meccanici.

Egli ritiene (ed io accetto la sua teoria), che i corpuscoli amilacei si formino per trapelamento della mielina, che non viene fissata dall'alcool ed ha perciò tendenza fisica a riunirsi in corpi sferoidali, trapelando attraverso il tubo nervoso reso permeabile o dal liquido fissatore — cosa che ritengo più verosimile — o per fatti patologici, o per la morte (²).

(¹) A. Ceci, *Contribuzione allo studio della fibra nervosa midollata ed osservazioni sui corpuscoli amilacei dell'encefalo e midollo spinale.* (Estratto dai frammenti della R. Accademia dei Lincei, Vol. 5°, pag. 75.)

(²) A. Ceci, L. c.

Cervelletto.

Le conclusioni che dai risultati delle ricerche fatte su quest'organo si possono trarre, sono compagne a quelle riguardanti il cervello.

Nelle cellule nervose e gliomatose dei tre strati del cervelletto si riscontrano infatti gli stessi caratteri già notati nelle cellule del cervello.

Farò menzione particolareggiata dei fatti che ho notati nelle cellule del Purkinje.

In alcune di esse come prodotto artificiale si nota che il protoplasma si presenta di aspetto jalino: di più in altre si ha la formazione di grandi cavità attorno al protoplasma.

Come prodotto cadaverico si ha che i prolungamenti protoplasmatici di queste cellule diventano corti e tozzi; il protoplasma subisce la disgregazione granulare e gradatamente va rarefacendosi. Quest'ultimo fatto però non è molto generalizzato, ma si riscontra soltanto in poche cellule, anche nei cervelletti fissati dopo molte ore (56) dalla morte.

In quelle cellule grosse e rotonde invece, che stanno attorno alle cellule del Purkinje, la disgregazione granulare del protoplasma con graduale scomparsa di esso è molto spiccata, precoce e diffusa. Presto infatti gran numero di queste cellule conservano il solo nucleo, che spesso è costituito da un intreccio di fili esili, granulosi, leggermente tinti.

Nei cervelletti fissati con alcool assoluto ho riscontrato lo stato cribroso, come nel cervello, e intorno all'origine di tale alterazione le considerazioni sono identiche a quelle fatte per il cervello.

Bulbo.

In questa parte riscontrasi pure, ma in modo assai limitato, lo stato cribroso, se essa viene estratta dall'animale alquante ore dopo morte e fissata in alcool assoluto.

Le alterazioni che presentano le cellule e le fibre del bulbo sono identiche a quelle, che si trovano negli stessi elementi

del midollo spinale, e per evitare superflue ripetizioni, ne parlerò minutamente trattando del midollo spinale.

Un fatto solo merita particolare menzione e consiste nel diverso modo di partecipare dei vari fasci di fibre nervose, che scorrono nel bulbo, all'alterazione postmortale.

Un fascio di grosse fibre nervose, che scorre simmetricamente ai lati del rafe mediano (campo motorio del Meynert) è colpito molto tardi dall'alterazione ed anche nei bulbi presi in ore molto distanti dalla morte, si vedono ancora in buon numero fibre nervose del tutto normali.

Tutti quegli altri fasci invece, che stanno all'esterno della sostanza bulbare e sono costituiti di fibre più piccole di quelle del fascio precedente, si alterano molto presto: nel bulbo preso 12 ore post mortem molte fibre sono già alterate, in quello preso 24 ore dopo quasi tutte le fibre sono alterate.

Di più mentre nelle fibre nervose dei fasci posti alla periferia si passa direttamente dallo stato normale a quello, in cui la fibra s'ingrandisce e il cilindrasse si rigonfia, disgregandosi in finissimi granuli, nelle fibre costituenti il campo motorio di Meynert invece si osserva dapprima (sebbene non in tutte le fibre, che vanno alterandosi) la presenza di vacuoli dentro la fibra nervosa; vacuoli, che spesso invadono il cilindrasse, il quale in fine va in preda al solito rigonfiamento con disgregazione finamente granulare. Questi vacuoli non si trovano quasi mai nelle fibre nervose del midollo spinale: nelle mie osservazioni li ho riscontrati una volta sola (fig. 14).

Siffatto modo di partecipare diversamente dei varii fasci nervosi all'alterazione postmortale, si riscontra pure nei fasci del midollo spinale, sebbene non in maniera così distinta come nel bulbo.

Midollo spinale.

Nei pezzi presi subito dopo la morte dell'animale e induriti in liquido di Müller, la maggior parte delle cellule nervose presentano caratteri affatto normali (fig. 1, 3, 4), alcune invece presentano il protoplasma come retratto ora tutt'intorno, ora da

un solo lato della cellula, e tra la periferia di esso e il contorno della cavità cellulare esistono piccoli vani rotondeggianti, contigui, distinti l'uno dall'altro da sottili tramezzi, che metton capo, da una parte al protoplasma, dall'altra al contorno del cavo cellulare (fig. 2, 5). Il protoplasma in tali cellule appare come retratto e i prolungamenti di esso non sono così lunghi come nelle cellule, che non presentano questa alterazione.

Tutte le cellule però conservano prolungamenti intatti e molto lunghi, il protoplasma di esse si colora bene e uniformemente, il nucleo è sempre evidente: solo in qualcuna di quelle cellule, che presentano cavità multiple intorno al protoplasma, questo assume una tinta assai scura e perciò il nucleo non si distingue chiaramente.

Nei midolli fissati alquante ore dopo morte, si osserva anzitutto, che le cellule presentano protoplasma jalino, poco colorabile; sembrano tumefatte ed hanno forma quasi rotondeggiante: i prolungamenti protoplasmatici di esse si vanno facendo sempre più corti e tozzi, a misura che aumenta il tempo trascorso dalla morte alla fissazione dell'organo; anzi in alcune cellule non se ne scorgono affatto (fig. 6, 7, 8).

Molto presto nelle cellule delle corna posteriori, più tardi in quelle delle corna anteriori, il protoplasma diventa grossolanamente granuloso ed i granuli vanno facendosi tanto più scarsi e radi, quanto maggiore è il tempo trascorso dopo la morte: quando l'intervallo dalla morte alla fissazione è molto lungo, i granuli protoplasmatici sono ridotti ad una piccola massa posta dentro la cavità cellulare (fig. 9, 10). In mezzo a questo cumulo di granuli a volte scorgesi ancora il nucleo, talvolta si scorge soltanto un piccolo punto lucente, che è il nucleolo (fig. 7).

Ma anche in midolli fissati lungo tempo dopo la morte accanto alle cellule dai caratteri sopra descritti, se ne trovano altre, di cui il protoplasma si colora bene, il nucleo si vede distintamente e resta ancora qualche moncone dei prolungamenti protoplasmatici (fig. 10): in alcune di siffatte cellule si trovano cavità rotondeggianti attorno al protoplasma, però non si tratta di cavità multiple, quali si riscontrano nelle cellule di midolli fissati appena ucciso l'animale, ma di una cavità unica ora

molto grande, ora piccola e situata da un lato della cellula (fig. 10).

Le medesime cose notate per i midolli induriti con liquido di Müller, se presi subito dopo morte, si osservano anche in quelli fissati in alcool assoluto, meno le cellule con cavità periferiche multiple e quelle altre, che si presentano come tumefatte con protoplasma jalino; ed in vero, nei midolli presi e fissati immediatamente dopo morte, si osserva sempre, che il protoplasma occupa tutta la cavità cellulare, presenta aspetto striato ed i suoi prolungamenti sono normali; il nucleo è ben distinto. Ma dopochè sono passate molte ore dalla morte, il protoplasma delle cellule, anche nei midolli fissati in tal modo, diventa grossolanamente granuloso e i granuli vanno sempre più diradandosi, finchè si riducono ad un piccolo cumulo, dentro cui il nucleo alcune volte manca, altre volte si trova.

Da quanto si è detto si desume chiaramente, che, come alterazione artificiale, nelle cellule della midolla spinale si trova, come già aveva visto il Ranvier (1), la formazione di cavità multiple sul contorno del protoplasma, dovuta allo indurimento coi bicromati alcalini. Questo fatto si potrebbe designare col nome di *vacuolizzazione periferica* della cellula, per distinguerla da un altro genere di vacuolizzazione che consiste nella comparsa di cavità chiare, rotondeggianti, situate in mezzo al protoplasma e che perciò potrebbe chiamarsi *vacuolizzazione centrale*. Quest'ultima specie di vacuolizzazione nelle mie osservazioni non è stata mai riscontrata e quindi sono d'avviso, che versi in errore lo Schulz (2) nel credere [seguendo l'opinione dello Charcot (3)], che essa si debba ritenere come un prodotto artificiale. Io all'opposto ritengo, col Leyden (4), col Rosenbach (5) e con Kahler

(1) Ranvier, *Traité tecnique d'histologie*. Paris, 1875, pag. 1061.

(2) R. Schulz, *Ueber artificielle cadaveröse. u. pathologischen Veränderungen des Rückenmarks*. (Neur. Centralblatt, 1883, 23, 24.)

(3) J. M. Charcot, *Leçons cliniques sur les maladies du système nerveux*, V. II, 1re Partie.

(4) Leyden, *Rückenmarkskrankheiten*, Bd., S. 74.

(5) Rosenbach, *Ueber die Bedeutung der Vacuolenbildung in den Nervenzellen*. (Neur. Centralblatt, 1884, Z. 3, S. 54.)

e Pick ([1]), che l'esistenza di spazi chiari, simili a vescichette vuote in mezzo al protoplasma indichi sempre un' alterazione patologica.

La tumefazione delle cellule ganglionari e l'aspetto jalino, vitreo del loro protoplasma, a me pare, si debbano considerare di origine cadaverica e artificiale nel tempo stesso, perchè quest'alterazione non si riscontra mai nei midolli fissati in alcool assoluto, bensì in quelli presi e induriti in liquido di Müller alquante ore dopo la morte dell'animale; nè si rinviene, secondo le mie osservazioni, se il midollo viene fissato con questo liquido appena ucciso l'animale. Però non sono contrario a ritenere, che simile alterazione possa essere prodotta soltanto da cause artificiali, come ho visto nelle cellule del cervello ed in quelle dei gangli intervertebrali, nei quali organi la detta alterazione si riscontra, anche se essi vengono induriti in liquido di Müller subito dopo morte.

Lo Schulz ([2]) ritiene, che quest'alterazione, quando si riscontra in grado leggero, sia di origine artificiale, dovuta, cioè ad un differente modo d'indurimento, e la considera invece di origine patologica, quando essa si presenta in grado elevato e accompagnata da altre alterazioni patologiche, specialmente infiammatorie. Charcot ([3]), Leyden ([4]) ed Erb ([5]) affermano che siffatta alterazione è sempre di natura patologica.

Per i risultati ottenuti nelle mie ricerche io ritengo, come già dissi, che l'alterazione in parola sia sempre, o semplicemente di origine artificiale, oppure artificiale e cadaverica insieme.

La disgregazione granulare del protoplasma e il diradarsi graduale dei granuli di esso, che si nota nelle cellule ganglionari tanto dei midolli induriti in liquido di Müller, quanto di quelli fissati in alcool assoluto, deve considerarsi

---

([1]) Kahler e Pick, *Ueber Vacuolenbildung in den Ganglienzellen des Rückenmarks.* (Beiträge zur Pathologie und patologischen Anatomie des centralnervensystems, Leipzig, 1879.)

([2]) L. c.

([3]) L. c.

([4]) L. c.

([5]) Erb, *Rückenmarkskrankheiten*, Zeit., S. 413, 453.

come alterazione cadaverica. A confermare ciò sta inoltre il fatto della comparsa di tale alterazione solo nei midolli tolti dall'animale lungo tempo dopo la morte, nonchè il modo graduale con cui essa si estende e si fa sempre più accentuata a norma del maggior numero di ore trascorse dalla morte.

Le fibre nervose, nel midollo fissato appena ucciso l'animale ed in quelli fissati 4, 8 ore dopo morte, sono del tutto normali (fig. 13). Solamente nel midollo fissato dopo 12 ore poche fibre cominciano a presentarsi alterate. A 16 ore dopo morte il processo di alterazione si estende a molte fibre e di esso si possono distinguere diverse modalità: alcune fibre presentano il cilindrasse frammentato (fig. 17) e ridotto in granuli lucenti, situati alquanto irregolarmente dentro la fibra nervosa; altre sono molto ingrossate, il cilindrasse è ridotto ad un piccolo punto lucente posto sul contorno interno della fibra (fig. 14, 15), e da esso si espande dentro la cavità della fibra, a guisa di alone, una certa quantità di finissime granulazioni poco colorabili. In alcune fibre così ingrandite il cilindrasse invece è rappresentato da un certo numero di granuli lucenti posti da un lato del cavo della fibra ed immersi in una sostanza chiara, quasi amorfa, o finamente granulosa, che, come una nubecola, riempie in tutto o quasi la cavità della fibra. Vi sono poi fibre, anch' esse molto ingrandite, in cui il cilindrasse è situato eccentricamente, ma non tocca il contorno della fibra ed è circondato sempre da quella solita sostanza finamente granulosa, che in parte riempie la cavità della fibra.

Molte altre varietà di aspetto presenta il cilindrasse nelle fibre così alterate, ma fra tutte prevale quella, in cui il cilindrasse è ridotto ad un punto lucente posto sul contorno interno della fibra e da esso si spande la sostanza finamente granulosa già descritta. Nei midolli presi molte ore dopo morte è quasi esclusivamente questa l'alterazione delle fibre nervose (fig. 18, 19, 20).

Occorre notare, che l' alterazione comincia a manifestarsi nelle fibre più grosse, risparmiando le più piccole (fig. 14, 16), e mano mano che l'intervallo dalla morte alla fissazione dell'organo cresce, l' alterazione si estende anche a queste ultime.

Si osserva parimenti, che l'alterazione incomincia nelle fibre situate più all'esterno nella sostanza bianca e va poi progredendo verso l'interno; ma non bisogna credere, che vi sia un limite netto di demarcazione fra la regione, in cui le fibre sono alterate e quella in cui esse non lo sono, poichè nello stesso tempo che l'alterazione riscontrasi, come avviene in principio, più estesamente e spiccatamente verso la parte periferica della sostanza bianca e nei cordoni posteriori in ispecie, si riscontrano pure fibre alterate fra quelle più interne e vicine alla sostanza grigia (fig. 7).

Questi fatti sono tanto ovvii e caratteristici, che io non credo si possa mettere in dubbio la loro origine cadaverica: basta a dimostrarlo il modo lentamente progressivo, secondo cui le alterazioni descritte vanno facendosi più manifeste per grado e per estensione, a misura che crescono le ore dalla morte dell'animale alla fissazione dell'organo.

Le piccole fibre nervose della sostanza bianca cerebrale e cerebellare si mantengono per assai lungo tempo dopo la morte inalterate, ma in cervelli e cervelletti fissati 32 ore post mortem si vedono fibre ingrandite ed alterate in modo simile a quelle del midollo spinale.

Nel midollo preso subito dopo la morte e fissato in alcool assoluto le fibre nervose sono normali, con i cilindrassi ben colorati e distinti; nei midolli invece fissati dopo molte ore la sostanza bianca presenta una struttura reticolare a larghe maglie, e non è possibile distinguere in essa alcuna fibra nervosa con caratteri normali: le guaine mieliniche appaiono grandemente distese e alcune in qualche punto interrotte, i cilindrassi non si distinguono.

Quest'aspetto, che assume la sostanza bianca, dipende senza dubbio dall'azione energica dell'alcool, per cui le fibre nervose, già alterate per fatti cadaverici, vengono a perdere ogni carattere di struttura normale.

Anche nei cervelli e nei cervelletti fissati in alcool la sostanza bianca, dopo alcune ore dalla morte, assume aspetto reticolare, con maglie però meno larghe di quelle che notansi nella sostanza bianca del midollo spinale.

Molti osservatori (Charcot, Schultze, Virchow, Leber, Hadlich (1) ecc.) hanno descritto un'alterazione delle fibre nervose del midollo spinale col nome di *tumefazione* o rigonfiamento del cilindro dell'asse ed hanno giudicato siffatta alterazione come un processo patologico, che di preferenza si presenta nella mielite acuta e cronica, nella degenerazione grigia e nell'atrofia sclerotica.

F. Schultze (2) sospettando che quest'alterazione potesse avere un'origine artificiale o cadaverica, institui ricerche apposite ed ottenne risultati del tutto negativi.

Anche lo Schulz nelle sue ricerche (3) dice di aver fatto molta attenzione in proposito e di aver trovato soltanto in 8 midolli, verso la periferia di essi, i cilindrassi meno appariscenti e meno distintamente contornati, aumentati di volume, quasi rigonfii e pallidi; mai però vi potè scorgere la vera tumefazione ed ipertrofia dei cilindri assili: questi non avevano, dice lo Schulz, giammai in realtà aumentato di diametro, ma apparivano solo un po' più grossi perchè erano meno nettamente delimitati. E questi medesimi fatti egli notò tanto nei midolli presi 3-5 ore dopo la morte, quanto in quelli presi 44 ore dopo: ne conclude, che l'alterazione doveva essere prodotta dall'indurimento e che la tumefazione, l'inturgidimento dei cilindrassi si deve considerare come processo patologico.

Tanto lo Schultze adunque, quanto lo Schulz nelle loro ricerche non riscontrarono nelle fibre nervose del midollo spinale alcuna alterazione d'indole artificiale o cadaverica.

Questi risultati affatto negativi mi riescono molto strani e credo si debbano considerare come imperfette le ricerche dei sullodati autori. D'altronde l'alterazione, che presentano le fibre nervose, sia del midollo, sia del bulbo, come infine del cervello e del cervelletto, è tanto evidente e si manifesta in modo così costante e graduale, da parere impossibile, che essa possa passare inosservata: la differenza fra le fibre nervose

(1) Citati dallo SCHULZ, in « *Ueber artificielle, cadaveröse, ecc.* ».
(2) Citato dallo SCHULZ, o. s.
(3) L. c.

del midollo fissato subito dopo morte e quelle di un midollo fissato 24-40 ore dopo è tale, che non può sfuggire neppure all'occhio di chi guardi per la prima volta al microscopio.

Del resto non mi sembra, che l'alterazione da me riscontrata debba considerarsi semplicemente come tumefazione, ipertrofia, ingrossamento del cilindrasse; ma bensì come un ingrossamento di tutta la fibra nervosa pel rigonfiarsi della mielina, e che il cilindrasse, pure rigonfiandosi, vada incontro ad una disgregazione granulare progressiva.

Lo Schulz ritiene come reperto normale, senza speciale importanza, l'accumulo di cellule rotonde dentro il canale centrale, fino ad occluderlo, e attorno di esso. Egli viene a questa conclusione, perchè su 20 midolli da lui esaminati, in 10 riscontrò questo fatto, e siccome partiva dal principio che questi midolli fossero completamente normali (non ostante appartenessero ad individui morti per varie malattie), così anche la proliferazione di cellule rotonde attorno e dentro il canale centrale del midollo, sembravagli un fatto del tutto normale, senza speciale importanza.

Lo stesso reperto è stato considerato quasi da tutti gli osservatori come patologico (Mischeaud, Hellicker, Pickelbaring)[1]; soltanto F. Schultze [2] dice che in maniera normale si possano trovare accumulate attorno al canale centrale quantità di cellule della glia; ma tale risultato ha poca analogia con la proliferazione di cellule rotonde attorno al canale centrale e dentro di esso fino ad occluderlo, come ha visto lo Schulz.

Nelle mie ricerche, in 21 midolli esaminati, non ho mai riscontrato neppure un accenno a tale proliferazione di cellule rotonde attorno e dentro il canale centrale, nè l'ho mai osservato in parecchi altri midolli, veramente normali, di uomo e di animali diversi, esaminati per altro fine. Per conseguenza io sono d'avviso, che detta proliferazione costituisca un fatto puramente patologico.

---

[1] Citati dallo SCHULZ in L. c.
[2] *Virchow Archiv*, 1882, vol. 90.

L'epitelio cilindrico che riveste internamente il canale centrale midollare fino a 8,12 ore dopo la morte presenta caratteri affatto normali, ma, oltrepassato questo limite di tempo, esso incomincia a divenire torbido e in alcuni punti manca: il protoplasma, oltre a presentarsi torbido, assume difficilmente le sostanze coloranti e lo stesso avviene per il nucleo.

Ganglii intervertebrali

Nelle cellule nervose dei ganglii si notano le stesse alterazioni che per le cellule del midollo spinale, colla differenza però, che in essi si osserva qualche cellula rigonfiata con protoplasma jalino, se induriti in liquido di Müller anche subito dopo morte.

Nervi periferici

Nei nervi induriti subito dopo morte in liquido di Müller le fibre nervee sono normali, i loro cilindrassi ben colorati e distinti (fig. 21,22); però in alcune fibre la mielina invece di assumere un colorito uniforme violetto, roseo, piglia un colorito giallastro e si presenta in forma di granuli staccati, disposti attorno al cilindrasse (fig. 21).

Nei nervi fissati 12,16 ore dopo morte si nota la presenza di piccole cavità rotondeggianti, chiare (vacuoli) dentro le fibre nervose, che sono alquanto rigonfie e i rispettivi cilindrassi non si distinguono bene (fig. 23,24): quando il cilindrasse è chiaramente distinto, esso di solito da uno o più lati è compresso dai detti vacuoli (fig. 23). A misura che cresce l'intervallo di tempo dalla morte alla fissazione dell'organo, questi fatti si rendono più manifesti, finchè le fibre nervose diventano tutte rigonfie e la loro cavità è riempita in parte da una sostanza finamente granulosa, in cui a volte si scorgono ancora vacuoli (fig. 25): soltanto in pochissime piccole fibre il cilindrasse è ancora evidente (fig. 25).

Di nervi fissati in alcool assoluto non sono state esami-

nate che poche sezioni e perciò non ho tenuto conto dei risultati ottenuti.

Sono propenso a credere, che la disposizione della mielina in forma di granuli attorno al cilindrasse, osservata in alcune fibre dei nervi induriti subito appena ucciso l'animale, sia un prodotto artificiale.

Quanto poi all'ingrandirsi delle fibre (sebbene ciò non avvenga in grado così elevato, come nelle fibre del midollo spinale) pel rigonfiarsi della mielina, e al graduale disfacimento granulare del cilindrasse, che in ultimo si riduce ad un cumulo di fine granulazioni, ritengo che costituisca un'alterazione cadaverica, poichè nei nervi fissati subito dopo la morte dell'animale questi fatti non si riscontrano.

Per la medesima ragione considero come alterazione cadaverica la vacuolizzazione delle fibre nervee che si rinviene in un primo tempo nei nervi fissati dopo un certo numero di ore dalla morte.

Terminazioni nervose

Queste, come si è visto, durano a lungo inalterate e le terminazioni sensitive si conservano normali ancora per più lungo tempo, che non le motrici, poichè le placche terminali motrici già 24 ore post mortem presentano un principio di alterazione, laddove questa comincia a vedersi soltanto a 36 ore nei corpuscoli del Golgi.

Siffatta alterazione consiste in una frammentazione del filo terminale, per cui spariscono i sottili tramezzi di unione, che tengono uniti gl'ingrossamenti dell'intreccio del cilindrasse, sicchè ne risulta una piastra terminale formata da granuli staccati (fig. 27,28). Questi granuli inoltre non sono più uniformemente e intensamente colorati in nero, come allo stato normale, ma sono un po' meno scuri e finamente granulosi.

Non fa bisogno dire che qui si tratti di alterazione cadaverica.

Conclusioni

Alterazioni artificiali

Nel cervello e nel cervelletto si ha formazione di vacuoli attorno al protoplasma delle cellule, tumefazione jalina del protoplasma e qualche volta scomparsa del nucleo: questo stesso fatto si riscontra nelle cellule dei ganglii intervertebrali.

Nel bulbo e nel midollo spinale si ha vacuolizzazione periferica delle cellule.

In tutti gli organi nervosi si osserva la presenza di corpuscoli amilacei.

Nei nervi periferici si trova la mielina in forma di granulazioni disposte intorno al cilindrasse.

Alterazioni cadaveriche

Disgregazione granulare del protoplasma con graduale rarefazione di esso e scomparsa o meno del nucleo in tutte le cellule nervose ed in quelle della nevroglia; però in queste ultime il fatto si manifesta più precocemente.

Parimenti in tutti gli organi nervosi per fatti cadaverici si nota una struttura grossolanamente granulosa, porosa, con screpolature qua e là.

Le fibre nervose più presto nel midollo spinale e bulbo, più tardi nel cervello e cervelletto s'ingrandiscono per rigonfiamento della mielina: il cilindrasse si frammenta e cade in preda a disfacimento granuloso.

Nei nervi periferici si ha la vacuolizzazione delle fibre, leggera tumefazione di esse per rigonfiamento della mielina e disfacimento granulare del cilindrasse.

Nel midollo spinale inoltre si ha caduta parziale o totale dell'epitelio di rivestimento del canale centrale: le cellule epi-

teliali hanno protoplasma torbido, che, al pari del nucleo, non si tinge bene con le sostanze coloranti.

Nelle terminazioni nervose si osserva frammentazione del filo cilindrassile, che costituisce l' intreccio terminale, per cui al posto di esso restano dei grossi e piccoli granuli disgiunti.

Alterazioni artificiali e cadaveriche insieme

Formazione dell' *état-criblè* nella sostanza nervosa cerebrale, cerebellare e bulbare.

Tumefazione jalina delle cellule nervose del midollo spinale.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

Le figure sono state tutte disegnate col sussidio della camera lucida Abbe-Zeiss all' altezza del tavolino del microscopio, vennero poi impicciolite delle metà per mezzo della fotografia e poscia incise sulla pietra; quindi la cifra, che indica l' ingrandimento di ciascuna figura, deve intendersi divisa per 2.

Fig. 1 e 2. — Cellule delle corna anteriori del midollo spinale preso subito dopo la morte dell' animale e indurito in liquido di Müller. Le cellule della fig. 1 sono normali, quelle della fig. 2 presentano la vacuolizzazione periferica. $^3/_8$ Koristka × 475.

Fig. 3, 4 e 5. — Cellule delle corna posteriori del midollo spinale preso subito dopo morte e indurito in liquido di Müller. Le prime due sono normali, la terza presenta la vacuolizzazione periferica. $^3/_8$ Koristka × 475.

Fig. 6. — Cellule delle corna anteriori del midollo spinale preso 24 ore dopo morte e indurito in liquido di Müller. Si vede, rigonfiamento jalino del protoplasma e scomparsa dei prolungamenti protoplasmatici. $^3/_8$ Koristka × 475.

Fig. 7 e 8. — Cellule delle corna posteriori del midollo spinale preso 24 ore dopo morte e indurito in liquido di Müller. Si nota, scomparsa dei prolungamenti protoplasmatici, disgregazione granulare con rarefazione del protoplasma. Nella fig. 7 inoltre si vedono alcune fibre nervose alterate. $^3/_8$ Koristka × 475.

Fig. 9 e 10. — Cellule delle corna anteriori del midollo spinale preso 52 ore dopo morte e indurito in liquido di Müller. Si osserva forte disgregazione granulare del protoplasma e rarefazione di esso; una delle cellule della fig. 10 però si conserva ancora bene e presenta un vacuolo sul contorno del protoplasma. $^3/_8$ Koristka × 475.

Fig. 11. — Sezione di cervello preso 16 ore dopo morte e fissato in alcool assoluto. Si vede lo stato cribroso. $^3/_6$ Koristka × 36.

Fig. 12. — Sezione di cervello preso 40 ore dopo morte e fissato in alcool assoluto. Si vedono i corpuscoli amilacei (la sezione è stata colorata con ematossilina di Böhmer) e lo stato cribroso. $^3/_6$ Koristka × 36.

Fig. 13. — Fascio di fibre nervose del cordone anteriore del midollo spinale preso subito dopo morte e indurito in liquido di Müller. $^3/_8$ Koristka × 475.

FIG. 14, 15, 16 e 17. — Varî fasci di fibre nervose del midollo spinale preso 16 ore dopo morte e indurito in liquido di Müller. Fig. 14, fibre del cordone anteriore; fig. 15 e 16, fibre del cordone posteriore; fig. 17, fibre del cordone laterale. Si osserva, rigonfiamento della mielina, frammentazione del cilindrasse e disfacimento granuloso di esso. $^3/_8$ Koristka × 475.

FIG. 18, 19 e 20. — Varî fasci di fibre nervose del midollo spinale preso 52 ore dopo morte e indurito in liquido di Müller. Fig. 18 e 20, fibre del cordone anteriore; fig. 19, fibre del cordone posteriore. Si osservano in grado più avanzato le alterazioni dette per le figure precedenti. $^3/_8$ Koristka × 475.

FIG. 21 e 22. – Fasci di fibre del nervo sciatico preso subito dopo morte e indurito in liquido di Müller. Nella fig. 21 si vede la mielina in forma di granuli. $^3/_8$ Koristka × 475.

FIG. 23 e 24. — Fasci di fibre del nervo sciatico preso 16 ore dopo morte e indurito in liquido di Müller. Si vede, vacuolizzazione delle fibre, leggera tumefazione di esse e disfacimento granulare del cilindrasse. $^3/_8$ Koristka × 475.

FIG. 25. — Fascio di fibre del nervo sciatico preso 40 ore dopo morte e indurito in liquido di Müller. Le alterazioni dette testè vi sono più marcate. $^3/_8$ Koristka × 475.

FIG. 26. – Piastra nervosa motrice ottenuta mediante la reazione al cloruro d'oro secondo il metodo di Fischer su muscolo preso subito dopo morte. $^4/_8$ Koristka × 600.

FIG. 27. — Piastra nervosa motrice ottenuta col cloruro d'oro (metodo di Fischer) in muscolo preso 48 ore dopo morte. Si vede la frammentazione del filo terminale. $^4/_8$ Koristka × 600.

FIG. 28. — Corpuscolo muscolo-tendineo del Golgi, ottenuto con reazione al cloruro d'oro (metodo di Fischer) su muscolo preso 48 ore dopo morte. Si osserva la frammentazione del filo terminale. $^4/_8$ Koristka × 600.

Significazione delle lettere adoperate nelle figure.

s. d. m. — subito dopo morte.
d. m. — dopo morte.
f. n. — fibra nervosa.
V. — vacuoli.
c. a. — corpuscoli amilacei.

Tav. I.

V. Raspi dis. dal vero

E. C

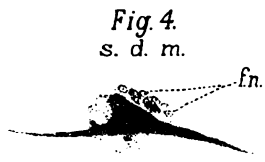
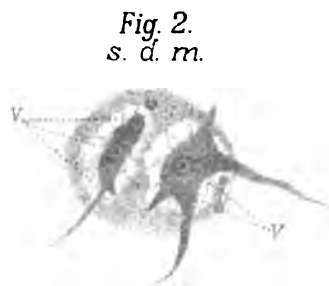
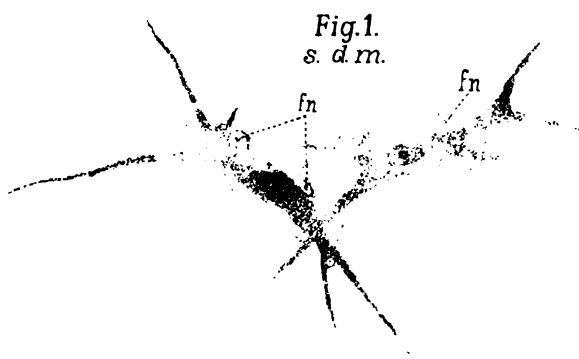
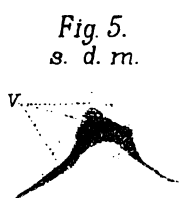
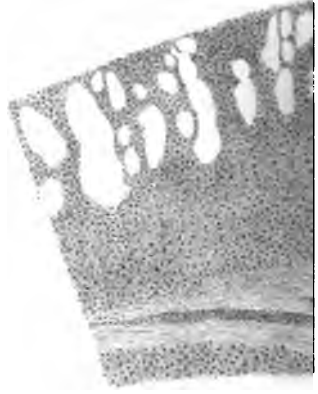
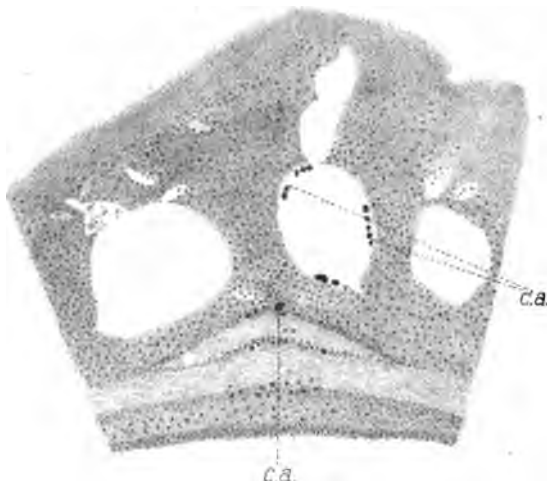
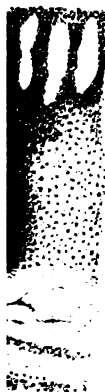
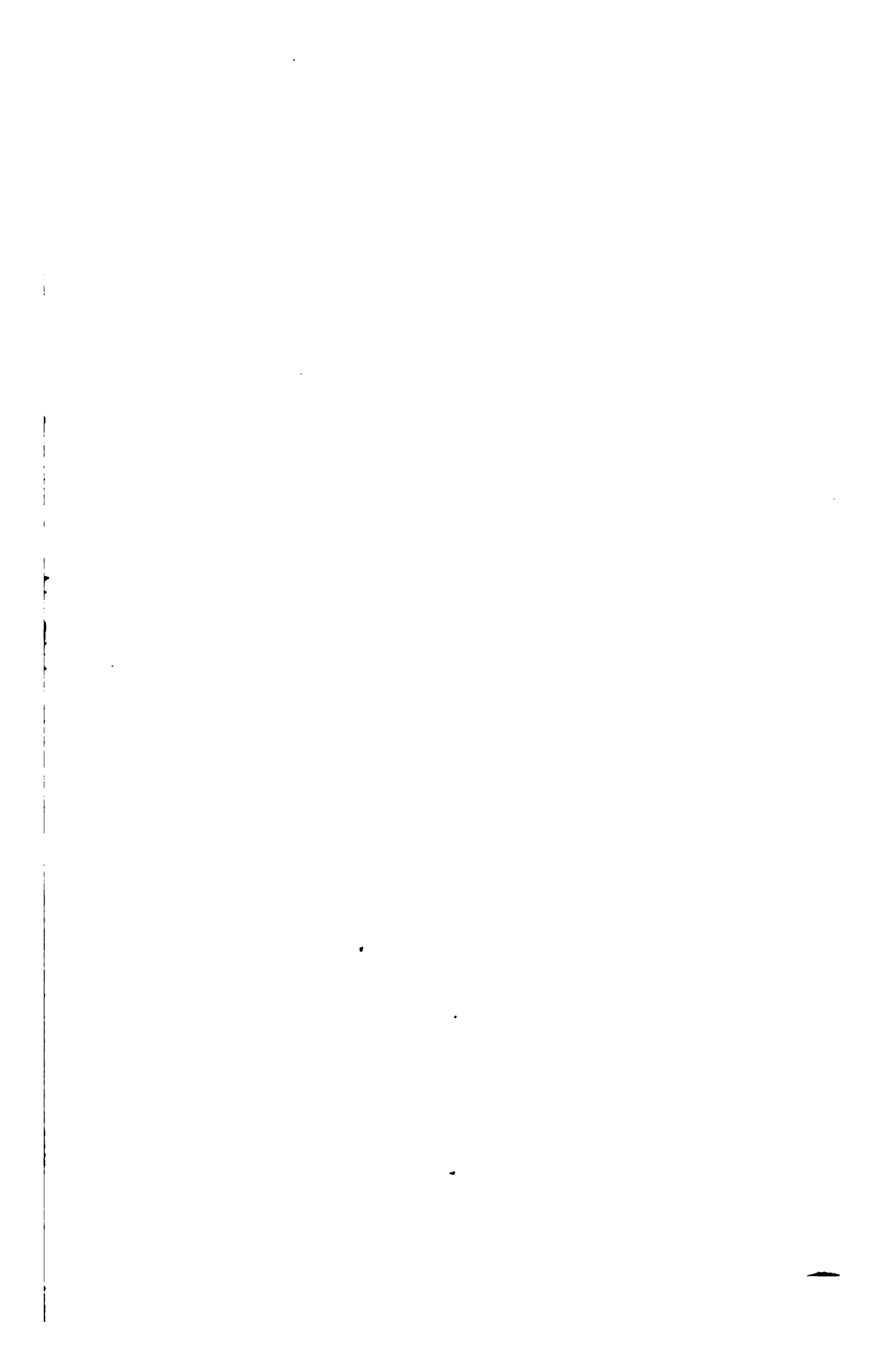
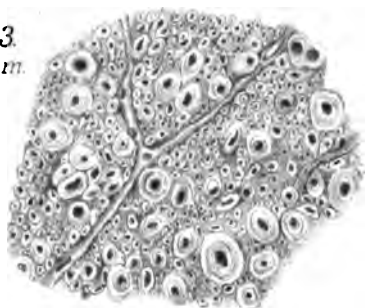
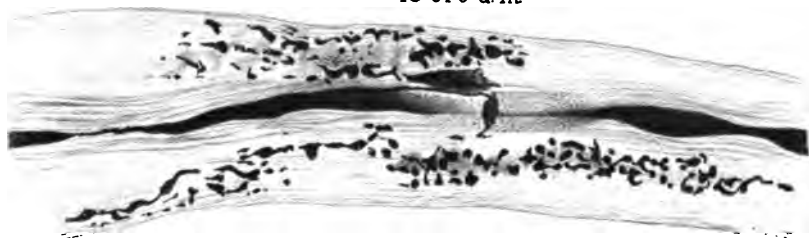



Fig. 6.
24 ore d. m.
Fig. 9.
52 ore d. m.
m.
Fig. 8.
24 ore d. m.
Fig. 10
52 ore d. m.
V
Fig. 12
40 ore d. m.
c.a.
c.a.

Tav. II.

V. Raspi dis. dal vero

E. Cor

Lit. Mazzoni e Rizzoli-Bologna.

Istituto di Anatomia Patologica di Firenze. Direttore prof. G. Banti.

CONTRIBUTO ALLO STUDIO DEI TUMORI PRIMITIVI DEL CUORE.

LIPOMA DELL' ORECCHIETTA DESTRA

DOTT. L. PETROCCHI.

Fra i reperti anatomo-patologici più rari indubbiamente figurano i tumori del cuore in generale ed in special modo i primitivi, che possono considerarsi come eccezionali. Essi si rivelano solo al tavolo anatomico poichè la sindrome fenomenica, anche se data esclusivamente dal tumore, di sì poco differisce da quella delle comuni lesioni cardiache da riescire in vita impossibile la diagnosi. Considerando la rarità di questi neoplasmi, credo opportuno riferire di un caso di lipoma, sviluppatosi nell'orecchietta destra, occorsomi di osservare nell' Istituto di Anatomia Patologica diretto dal prof. Banti.

Il 20 novembre 1895 nello Spedale di Santa Maria Nuova in Firenze veniva ricoverato un certo P.... Tommaso, di 77 anni, di professione renaiolo, affetto da cistite purulenta; fu assegnato al 2° turno chirurgico. Mi sembra affatto estraneo all'argomento riferire il decorso clinico della malattia, dirò solo che in vita non aveva mai sofferto di alcun disturbo dal lato del cuore e durante la sua degenza nello spedale non presentò mai alcun sintomo da far sospettare una lesione in quest' organo. Per i progressi della malattia vescicale venne a soccombere il giorno 26 del medesimo mese: 48 ore dopo la morte fu eseguita la necroscopia, della quale, per brevità, tralascerò di riferire le lesioni dell' apparato urinario, che condussero a morte il paziente. Senz' altro passo al reperto del cuore.

Nel sacco pericardico una discreta quantità di liquido di color citrino. Il cuore alquanto ingrandito (il suo diametro trasverso di cm. 13,5, il longitudinale di cm. 13, 9) ricoperto da non abbondante grasso, più scarso sull'orecchietta destra, un po' maggiore sulla sinistra, lungo i vasi coronari e nel setto trasverso: il suo peso insieme a porzione dei grossi vasi

di gr. 359. Il pericardio viscerale lievemente opacato, non notevolmente ispessito.

Aperte nel modo consueto le cavità: nell'orecchietta destra, fra lo sbocco della vena cava superiore e quello dell'inferiore, si vede un tumore di figura ovoidale, globoso, delle dimensioni di un uovo di piccione, che partendo dalla parete dell'orecchietta a mo' di fungo sporge nella cavità dell'orecchietta stessa: l'endocardio lo copre in tutta la sua estensione. All'esterno, verso l'epicardio, fa pure una leggera sporgenza: si può vedere cioè nel punto corrispondente come l'epicardio sia sollevato da una piccola prominenza giallognola.

Sebbene la base sia un po' più ristretta del corpo del neoplasma, pure questo non può considerarsi come peduncolato. Il suo massimo diametro è di mm. 55, la sua circonferenza di mm. 82.

Il tumore, di forma allungata, appare costituito come da tre lobulazioni: una, corrispondente all'estremità rivolta verso la vena cava inferiore, è più grossa delle altre, ha forma ovoidale col suo massimo diametro disposto trasversalmente a quello massimo del tumore; vi è una lobulazione centrale un poco più piccola; una terza, corrispondente alla cava superiore, più piccola delle precedenti, si perde nella parete dell'orecchietta in modo non del tutto regolare. La superficie del tumore in tutta quanta la sua estensione appare liscia, lucente, non opacata, regolarissima; solo verso l'estremo più piccolo, ove si perde colla parete dell'orecchietta, è alquanto più scabra ed opaca.

La consistenza del neoplasma è in ogni sua parte omogenea, piuttosto molle: il colorito giallo paglierino uniforme è uguale tanto alla superficie che guarda l'atrio quanto a quella rivolta verso la parete dell'orecchietta.

Al taglio il tumore si mostra di color giallognolo un po' più intenso che alla superficie, omogeneo, con l'aspetto di tessuto adiposo.

Nato il tumore nello spessore della parete dell'orecchietta destra ha progredito in gran parte verso l'interno della cavità ed in piccola parte verso il pericardio. Essendo il tumore fisso alla parete dell'orecchietta ed impiantato per una larga superficie, sporge diritto orizzontalmente verso la cavità dell'orecchietta, ed essendo il suo volume tale da non raggiungere l'ostio atrio ventricolare non aveva durante la vita opposto ostacolo al libero passaggio del sangue.

L'endocardio dell'orecchietta corrispondente, normale per trasparenza e spessore, solo intorno alla base d'impianto del tumore è un poco inspessito ed opacato. Il miocardio si presenta più pallido e più facilmente lacerabile dell'ordinario.

Le altre cavità del cuore non presentano nulla di anormale: le pareti dell'orecchietta sinistra e dei due ventricoli sono normali, gli orifizi e gli apparecchi valvulari sani. L'aorta ascendente presenta in qualche punto lieve ateromasia al pari delle arterie coronarie, che sono molto tortuose e di calibro un po' inferiore al normale.

Per quanto siano state fatte le più minute ricerche in ogni parte del cadavere nessuna traccia di altro tumore.

Per le osservazioni istologiche, per non guastare il pezzo patologico, che si conserva nel museo, presi alcuni frammenti sia in corrispondenza dell'inserzione del tumore alla parete dell'orecchietta, sia nel corpo, trattandoli e colorandoli coi comuni mezzi. Il neoplasma risultò composto di tessuto adiposo puro come l'osservazione macroscopica aveva fatto sospettare. Cellule adipose di varia grandezza, di forma sferica, prevalentemente grosse, formano dei grossi lobuli divisi da sottili setti connettivali, i quali partendo dalla periferia basale del tumore si diramano verso l'interno assottigliandosi. Vasi sanguigni decorrono dalla periferia verso il centro tra le cellule adipose ed in special modo lungo i setti fibrosi: in una parola l'aspetto normale e tipico del lipoma. Il neoplasma è diviso dal tessuto muscolare della parete dell'orecchietta nettamente e non esiste una zona intermediaria in cui fibre muscolari sono frammiste a cellule adipose. In un punto le fibre muscolari appaiono schiacciate, con nucleo non ben distinto, evidentemente compresse dal neoplasma: in nessun punto traccia di degenerazione delle fibre miocardiche. In alcuni punti fra lo strato muscolare ed il tumore si vede uno strato fibroso non molto spesso, ma compatto, che dà l'apparenza di un rudimento di capsula involgente.

Due soli, per quanto a me resulta, sono i casi di lipomi cardiaci fino ad oggi pubblicati; l'uno nel 1865 dall'Albers [1], l'altro nel 1886 dal prof. Banti [2]. Il caso dell'Albers si riferisce a un vecchio di 77 anni straordinariamente magro, morto molto probabilmente per esaurimento senile. All'autopsia risultò il cuore essere quasi atrofico ed il lato sinistro del pericardio intimamente unito con la superfice cardiaca. Il tumore, della grandezza di un piccolo uovo di gallina, era innicchiato nelle pareti del ventricolo sinistro in corrispondenza dell'apice del cuore, separato dalla cavità del ventricolo mediante un sottile strato muscolare. Alla punta era scolorito e di color bianco gialliccio, alla base attraversato da vasi con più ramificazioni che decorrevano sotto la sierosa e che formavano un reticolato intorno a tutta la base. Il tumore era di consistenza durissima

---

(1) *Virchow's Archiv für path. Anat. und Physiol.*, Bd. X, pag. 215.
(2) *Lo Sperimentale*, fasc. 9, 1886, Firenze.

e molto compatto. L'esame microscopico (ingrandimento 300 d.) dimostrò all'evidenza trattarsi di un fibrolipoma.

Il caso del prof. Banti fu osservato alla necroscopia di una donna di 52 anni ricoverata e morta nello spedale di Santa Maria Nuova in Firenze in seguito a demenza paralitica. Riassumo brevemente il reperto del cuore: nell'orecchietta destra, in corrispondenza della sua faccia posteriore, esisteva un tumoretto di figura sferica, della grandezza di una ciliegia circa, di colorito giallognolo. Esso era situato tra l'orifizio ventricolare e lo sbocco della vena cava inferiore, era della grandezza di 2 cm. di diametro e stava impiantato sulla parete auricolare con base più ristretta ma non peduncolata. Le altre cavità normali, gli orifizi e le valvule integre. L'esame istologico confermò trattarsi di un lipoma puro.

Nel 1867 sotto il nome di lipoma midollare infettivo fu descritto dal Gernet ([1]) un caso riferentesi a donna di 46 anni: ma in modo assoluto non devesi annoverare fra i lipomi cardiaci perchè, oltre ad essere secondario a un tumore sviluppatosi nella coscia, certe particolarità istologiche autorizzerebbero a discutere se il neoplasma dovesse piuttosto riferirsi ai sarcomi.

Ricercando nella letteratura medica quali altri tumori cardiaci primitivi d'altra natura fossero stati pubblicati, ho notato che la maggior parte dei casi descritti sono o in modo assoluto secondari a neoplasie sviluppatesi primitivamente in altri organi o forme che per la loro costituzione istologica non possono classificarsi fra i tumori. Cito fra i molti il caso del Veis ([2]), che dal Fränkel ([3]), viene riferito quale primitivo, mentre è secondario e come tale originariamente venne descritto. Il caso del Byron Bramwell ([4]) riferito da A. Pic e J. Bret ([5]) come primitivo, fu riconosciuto secondario dallo stesso Bramwell in al-

---

([1]) *Virchow's Archiv*, Bd. XLI.
([2]) *Gazzetta medica Italiana e provincie venete.* XXIII, Padova, 1880.
([3]) *Festschrift zur Eröffnung des Krankenhauses zu Hamburg.* Eppendorf, 1889.
([4]) *British medical Journal*, 1875.
([5]) *Revue de médecine*, 1891.

tro suo lavoro (1); sono pure secondari i casi appartenenti al Da Costa (2), al Gross (3), al Virchow (4), all' Ingram (5) e moltissimi altri. Così casi di gomme sifilitiche sviluppatesi nel miocardio vengono descritte come casi di tumori primitivi da alcuni autori, che considerano come tumori anche la neoformazioni infiammatorie dovute ad azione specifica di microrganismi (Jurgens) (6).

Nella tavola che segue ho riunito coi dati più interessanti a conoscersi e seguendo l'ordine cronologico tutti i tumori cardiaci che si possono ritenere in modo assoluto primitivi, pubblicati fino al luglio 1896.

Tumori cardiaci primitivi

Num.	Natura del tumore	Sede	Età	Sesso	Autori che riferirono il caso	Epoca
1	Sarcoma	Parete esteriore del ventricolo destro.	anni 37	M	Andral	1829
2	Fibroma	Parete del ventricolo sinistro.	6	M	Luschka	1855
3	Fibrolipoma	Parete del ventricolo sinistro.	77	M	Albers	1856
4	Carcinoma (?)	Apice del ventricolo destro.	47	M	Locher	1860
5	Fibroma	Nella cavità del ventricolo sinistro.	47	M	Kottmeier	1862
6	Mioma	—	mesi 4	M	Reklinghausen	1862
7	Mioma	Apice del ventricolo sinistro.	neonato	M	Virchow	1863
8	Sarcoma	Parete posteriore dell' orecchietta destra.	44	M	Bodenheimer	1865
9	Carcinoma (?)	Emergente dalla parete del ventricolo sinistro.	24	M	H. Prudhomme	1867

(1) *Diseases of the heart and thoracic aorta*, 1884.
(2) *Philadelphia medical Times*, 1878.
(3) *Transact. of path. Society*. Philadelphia, 1880.
(4) *Herztumor. Abhandl. der Physiol. med. Gesellschaft*. Vürzburg, 1882.
(5) *Transactions of phathol. Society*. Philadelphia, 1879.
(6) *Zur Casuistik der primären Herzgeschwülste*. (Berliner klinische Wochenschrift, 1891, n. 42, pag. 103.)

Num.	Natura del tumore	Sede	Età	Sesso	Autori che riferirono il caso	Epoca
			anni			
10	Sarcoma	Orecchietta destra.	79	F	Hottenvoth	1869
11	Mixoma	Parete interna dell' orecchietta sinistra.	60	M	Lorne	1869
12	Fibroma	—	—	—	Wagstaffe	1871
13	Sarcoma	Miocardio del ventricolo sinistro.	28	M	'Ely	1874
14	Sarcoma	Orecchietta destra.	—	—	Birch-Hirschfeld	1877
15	Mixoma telangectasico	Orecchietta sinistra.	60	F	Salvioli	1878
16	Fibroma	Setto interauricolare.	36	F	Zander	1880
17	Fibromixoma	Orecchietta sinistra.	80	F	Boström	1880
18	Fibroma	Orecchietta sinistra.	49	M	Waldvogel	1885
19	Lipoma	Orecchietta destra	52	F	Banti	1886
20	Mixofibroma	Setto interauricolare.	18	F	Martinotti	1886
21	Mioma	—	—	—	Koliscko	1887
22	Sarcoma	—	—	F	Fränkel	1889
23	Fibroma	Orecchietta destra.	10	M	Jürgens	1891
24	Fibromixoma	Orecchietta sinistra.	50	M	Jürgens	1891
25	Fibrosarcoma	Orecchietta destra.	36	M	Jürgens	1891
26	Mixoma	Orecchietta sinistra.	55	F	Bérthenson	1892
27	Rabdomioma	Setto interventricolare.	3	M	Cesaris Demel	1895
28	Lipoma	Orecchietta destra.	77	M	Petrocchi	1895
29	Mioma	Ventricolo sinistro.	34	M	Justi	1896

*
* *

Alla cifra di ventinove quindi, secondo le mie ricerche, ascendono i tumori cardiaci primitivi: di cui sei sono sarcomi puri, un fibrosarcoma, sei fibromi puri, due fibrosarcomi, cinque miomi, quattro mixomi, tre lipomi, compreso il caso da me riferito, e due carcinomi.

I più frequenti neoplasmi che colpiscono il cuore sarebbero dunque i sarcomi che istologicamente non presentano alcun che di speciale: riguardo alla sede sarebbero più frequenti nelle orecchiette che nei ventricoli. Alcuni appartengono alla varietà fusocellulare (Bodenheimer): altri a piccole cellule rotonde ('Ely): altri a cellule giganti (Birch-Hirschfeld).

Di eguale frequenza sarebbero i fibromi puri che presentano la loro costituzione istologica consueta, nè sembrano avere una sede di predilezione in alcuna parte speciale del cuore. Tre forme miste: due fibromixomi e un fibrosarcoma.

In ordine di frequenza verrebbero i miomi che ascendono al numero di cinque: di cui tre leiomiomi ed un rabdomioma.

A quattro ascenderebbero i mixomi dei quali due puri, uno telangectasico ed un mixofibroma. A differenza di tutti gli altri tumori sono esclusivamente endocardiaci e si presentano sotto forma papillare, con peduncolo inserto alla parete dell'orecchietta e sporgente liberamente nella cavità. Di notevole è la costanza della loro sede nell'orecchietta sinistra.

Strano invero il reperto di carcinoma primitivo nel cuore, e non senza titubanza ho riportato i due casi, l'uno appartenente a Locher e l'altro al Prudhomme, sebbene il Petit [1] arrivi a citare sette casi di cancri primitivi cardiaci! Il fatto omai acquisito e sanzionato dalla scienza che il carcinoma sia d'origine epiteliale, farebbe escludere la possibilità del suo sviluppo primitivamente nel cuore ed è quindi colla massima riserva che io cito questi due unici casi, tanto più che si riferiscono ad un'epoca in cui le osservazioni istologiche erano ancora imperfette e non si sapevano distinguere i carcinomi da alcune forme di sarcomi. Ammesso che realmente fossero tumori epiteliali, nascerebbe il dubbio se potesse trattarsi di un fatto puramente metastatico, che il punto cioè di partenza del neoplasma fosse in un altro organo ed il focolaio primitivo di sì poca entità da essere sfuggito alle ricerche diligenti degli osservatori.

Relativamente ai lipomi l'Albers fa alcune considerazioni che riassumo brevemente. Dice che nel caso da lui riferito non

---

(1) *Trattato di Medicina* diretto da Charcot.

si tratta di alcuna di quelle solite ed abbondanti deposizioni di grasso all'esterno del cuore, proprie dell'età avanzata e che specialmente nel cuore destro acquistano grande sviluppo, s'approfondano e s' infiltrano tra i fasci muscolari del cuore in modo che di questi resta quasi solo uno strato dello spessore di pochi millimetri, il quale divide il grasso posto all'esterno del miocardio dalle cavità cardiache. Dichiara che il tumore da lui osservato è un vero lipoma con prevalenza di tessuto connettivo simile a quello che normalmente esiste nel cuore, fra gli strati muscolari: che quindi accanto a una neoformazione connettivale si osserva un' ipertrofia del tessuto adiposo del cuore, che per l'abbondanza e disposizione non si può confrontare collo stato fisiologico. L' origine va ricercata in una irritazione infiammatoria cronica, la quale è causa di disturbata nutrizione delle fibre muscolari: la vecchiaia nel suo caso aveva certamente affrettato lo stato infiammatorio e anche l' irritazione del cuore e delle arterie.

Il tumore descritto dall'Albers sembra provenisse dal connettivo intermuscolare del miocardio, contrariamente al caso descritto dal prof. Banti e a quello da me riferito, in cui evidentemente nasceva dal tessuto subendocardico, cioè in una parte ove in condizioni normali non esiste tessuto adiposo. Che i lipomi cardiaci non sono collegati ad un'eccessiva lipomatosi dell'organo è dimostrato anche dal caso descritto dal prof. Banti e dal mio, poichè in ambedue le glebe grassose sottoepicardiche erano in quantità affatto normale e separate dal neoplasma dallo strato muscolare.

È un fatto che i lipomi nascono il più spesso dal tessuto adiposo: ma è anche noto che possono svilupparsi da un tessuto connettivo, che normalmente non contenga adipe, e perciò nulla havvi di strano che prendano origine dal connettivo intermuscolare del cuore o dal subendocardico.

I tumori cardiaci possono occupare indistintamente tutte le parti del cuore, ma indubbiamente alcune sedi sono prefe-

rite. Essi possono dividersi in *sottoepicardici*, *interstiziali* o *mesocardici* e *sottoendocardici* a seconda della sede che occupano: i sottoendocardici sono i più frequenti, i sottoepicardici i più rari. Sopra 25 casi da me presi in considerazione occupavano: sette volte l'orecchietta destra; sei volte l'orecchietta sinistra; due volte il ventricolo destro; sette volte il ventricolo sinistro; tre volte il setto interventricolare. Manifesta quindi la loro maggior frequenza nelle orecchiette, al contrario di quello che succede per i tumori secondari che hanno spiccata predilezione per il ventricolo sinistro.

Riguardo al sesso, il Fränkel (l. c.), basandosi sopra il resultato di 17 casi (10 femmine, 7 maschi), conclude essere il sesso femminile più disposto ai tumori cardiaci, ma secondo le mie osservazioni sarebbe l'opposto; infatti sopra 25 casi di cui si conosce il sesso, otto solamente si riferiscono al sesso femminile.

Non vi è nulla di particolare relativamente all'età e si possono verificare in qualunque epoca della vita. I resultati delle mie osservazioni sono i seguenti: quattro casi si riscontrarono al disotto di sei anni d'età, due fra i dieci e i diciotto anni, tre fra i ventiquattro e i trentacinque, tre fra i trentasei e quaranta, cinque fra i quarantaquattro e i cinquanta, cinque fra i cinquantadue e i sessanta e due fra i settanta e gli ottanta. In quanto ai lipomi possiamo dire che siano propri della vecchiaia, giacchè il caso del prof. Banti si riferisce a donna di 52 anni e, strana coincidenza, tanto il caso descritto dall'Albers quanto il mio si riferiscono ambedue a soggetti di settantasette anni d'età.

Bibliografia speciale dei tumori cardiaci primitivi.

ANDRAL, Precis d'anatomie path., t. II, Paris, 1829.
LUSCHKA, Virchow's Archiv. Bd. X. 1855.
ALBERS, Virchow's Archiv. Bd. X. 1856.
LOCHER, Zur Lehre vom Herzen. Erlangen, 1860.
RECKLINGHAUSEN, Miome des Herzen. (Monats f. Geburtsk., Bd. XX, 1862).

VIRCHOW, Congenitales cavernöse Myome des Herzens. (Virchow's Archiv. Bd. XXX.)

KOTTMEIER, Virchow's Archiv. Bd. XIII, 1862.

BODENHEIMER, Primäres Sarcom des Herzens. (Beitrag sur Pathologie der krebsartigen Neubildungen am Herzen, 1867.)

H. PRUDHOMME, Gazzette des Hôpitaux. Paris, 1867.

LORNE, Bull. de la Societé anat. de Paris, 1869.

HOTTENROTH, Einige Fälle von Sarcom u. Krebs des Herzens. (In. Diss., Leipzig, 1870.)

WAGSTAFFE, Transact. of path. Society, ibid., XXII, 1871.

M. 'ELY, Thèse de Paris, n. 94, 1870.

BIRCH-HIRSCHFELD, Lehrbuch der pathol. Anat., 1877.

SALVIOLI, Rivista Clinica di Bologna. Ottobre 1878.

ZANDER, Virchow's Archiv. Bd. VIII, 188.

VALDVOGEL, Ein Fibrom des Herzens. (Dissert., Göttingen, 1885.)

MARTINOTTI, Gazzetta delle Cliniche di Torino. Febbraio 1886.

BANTI, Lo Sperimentale, fasc. 9°, Firenze, 1886.

KOLISKO, Congenitales Herzmyom. (Med. Jahb., 1887.)

FRÄNKEL, Ein Fall von primären Sarcom des Herzens. (Festschrift zur Eröffnung des Krankenhauses zu Hamburg, Eppendorf, 1889.)

JÜRGENS, Berliner klinische Wochenschrift, n. 42, 1891.

BOSTRÖM, Sitzungsber. der Erlang. physikal. med. Gesellsch. Juli 1880.

LÉON BÉRTENSON, Arch. de Med. expérimentale et d'Anat. path. Paris. 1893.

CESARIS DEMEL, Gazzetta della R. Accademia di Med. di Torino, n. 3, 1895.

JUSTI, Centralblatt für allgemeine u. pathologische Anat., 1896.

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile.*

Laboratorio di Fisiologia di Firenze, diretto dal prof. G. Fano.

SULLA RITMICITÀ DEL MOTO DEL CUORE

E SULLE SUE CAUSE

(DEL RITMO NEI FENOMENI BIOLOGICI) (1)

DEL

DOTT. FILIPPO BOTTAZZI

Aiuto e Libero Docente di Fisiologia nel R. Istituto di Studi Superiori in Firenze.

« Die Physiologie des Herzens erfährt in neuester Zeit eine Umgestaltung, welche weit über ihr nächstes Gebiet hinaus eine Umwandlung in der Auffassung fundamentaler Lebenserscheinungen hervorzubringen verspricht. Es wankt-und fällt wie erscheint-die alte Lehre, welche in dem eigenen Nervensystem des Herzens die Quelle der selbständigen Herzthätigkeit und den Vermittler des Herzrythmus erblickt. »

TH. W. ENGELMANN, *Beobacht. und Versuche am suspendirten Herzen.* II Abth. *Ueber die Leitung der Bewegungsreize im Herzen.* (*Pflüger's Arch.*, Bd. LVI, pag. 149, 1894).

Una questione che ha molto agitato ed agita i fisiologi contemporanei, ed ha provocato gran numero di ricerche e di discussioni, è quella riguardante la ritmicità dei moti del cuore e le sue cause. Essa, però, non rappresenta che un lato del complesso problema biologico della ritmicità, considerata come proprietà funzionale generale della materia vivente, dal protoplasma contrattile dell'organismo unicellulare all'apparecchio nervoso più complicato dell'essere superiore, in cui la funzione si svolge in forma di impulsi motori simultanei e successivi, secondo un ritmo semplice o composto, ma sempre ben determinato e sostanzialmente immutabile.

(1) Comunicaz. fatta all'Accademia medico-fisica di Firenze, a dì 18 giugno, 1897. Vedi: *La Settimana medica dello « Sperimentale »*, n. 27, pag. 326-327, 1897.

Noi dovremmo, per ciò, trattare, in due capitoli distinti, del ritmo nei fenomeni biologici, in generale, e in modo speciale del ritmo cardiaco e delle sue cause.

Ma il primo argomento è molto vasto, ed esigerebbe di potercisi soffermare più che io non debba. Onde preferisco di rammentare, nel primo capitolo, alcune delle forme principali di ritmo, quali si riscontrano nei diversi organi di animali superiori e negli organismi più bassi della scala zoologica, allo scopo di mostrare le analogie esistenti fra questi ritmi e il ritmo cardiaco, e possibilmente, l'origine filogenetica del ritmo. Raccoglierò nel secondo capitolo tutto quanto si riferisce al ritmo speciale dei moti del cuore e alle sue cause.

Io spero che una simile rivista critica dell'argomento importantissimo sia per tornare utile non solamente a quelli fra gli studiosi che non se ne occupano *ex professo*, ma anche, un poco, a coloro cui l'argomento è già familiare.

Per quanto riguarda più particolarmente il ritmo cardiaco esistono già due di tali riviste bibliografiche: ma la prima, del Gaskell, comprende esclusivamente i lavori propri dell'autore e data dal 1888; nell'altra, del Röther, benchè più recente, si trovano principalmente esposte le ricerche tossicologiche eseguite in questi ultimi anni sul cuore, onde è anch'essa molto unilaterale.

Lo scopo principale e l'utilità vera di questi sguardi sintetici sulla letteratura riguardante un dato argomento di biologia, deve consistere, non nella enumerazione muta e fredda dei lavori dei singoli autori, ma nel far risaltare dal numero grandissimo delle ricerche quelle condotte con intendimenti più generali e con rigorosità di metodo, nel tentar, tra mezzo a tante vie tortuose, di vedere e *indicare* quel sentiero che più probabilmente potrà condurre, prima o poi, alla soluzione di un dato problema di biologia, nell'accennare ciò che vi è di armonico, di concorde tra le varie voci, e la tendenza dell'indagine e del pensiero fisiologico attuali.

Io ho voluto, finalmente, esporre in questa memoria una dottrina sul determinismo chimico delle proprietà ritmica ed automatica generali della sostanza vivente, mettendole in rapporto coi fenomeni

intimi del metabolismo organico, e riferire alcune mie esperienze intorno all' azione degli anestetici sul cuore e particolarmente sulla sua funzione ritmica.

I. — Del ritmo nei fenomeni biologici.

Qualunque funzione del nostro organismo o degli organismi più elementari noi prendiamo a considerare, troviamo sempre ch' essa si svolge in forma ritmica. Vi sono ritmi elementari e ritmi molto complessi, per il numero degli organi che entrano a farne parte; ma tanto nei preludi della vita organica, quanto negli stadi più evoluti della medesima, noi siamo talmente abituati ad osservare la ritmicità d' ogni funzione, che quasi questo fenomeno universale ci passa ordinariamente davanti agli occhi senza attrarre in modo speciale la nostra attenzione.

Noi possiamo considerare i ritmi biologici come una categoria particolare degl' innumerevoli ritmi che si svolgono contemporaneamente e successivamente nell' universo.

Ma quale è la ragione e la condizione necessaria della forma ritmica del moto nelle funzioni degli esseri viventi?

Per ciò che riguarda il ritmo, come forma universale del movimento, ecco ciò che ha scritto lo Spencer (*Primi Princ.*):

« Poichè il ritmo si manifesta in tutte le forme del movimento, noi abbiamo ragione di pensare ch' esso è determinato da una condizione originale. Si suppone tacitamente ch' esso può dedursi dal principio della persistenza della forza. Noi vedremo che è proprio così.

« Quando si colpisce col dito una branca d'un diapason, si produce tra le sue particelle coerenti un eccesso di tensione; esse resistono ad ogni forza che tenda a farle uscire dal loro stato d' equilibrio. Entra in giuoco in queste particelle coerenti tanta forza, quanta ne spende il dito per spostare la branca del diapason. Per ciò, quando la branca è divenuta libera, essa è sottoposta a una forza eguale a quella impiegata in principio. La branca ritorna alla sua posizione primitiva, ma la forza che essa ha accumulata durante il suo rinculo ha fatto nascere in essa una quantità di movimento corrispondente, quantità ap-

prossimativamente uguale alla forza primitivamente impressa al diapason (noi dobbiamo dire « approssimativamente », perchè una certa parte è andata dispersa, comunicando del movimento all'aria, e un' altra parte è stata trasformata in calore). Questa quantità di movimento porta la branca al di là della posizione di riposo, quasi tanto al di là, quanto essa ne era stata allontanata la prima volta nella direzione opposta, fino al punto che, a lungo andare, a furia di consumarsi nel produrre una tensione analoga tra le particelle, il movimento è interamente esaurito. La tensione opposta, che non è che la trasformazione del movimento speso, produce allora un secondo movimento in dietro; e così di seguito, la vibrazione non arrestandosi in fine se non perchè, ad ogni movimento, una certa quantità di energia si dissipa, creando delle ondulazioni nell'aria e nell'etere. Ora, basta prestare attenzione a questa azione e a questa reazione ripetute, per vedere ch'esse sono, come ogni azione e reazione, una conseguenza della persistenza della forza. La forza spesa dal dito a tendere la branca del diapason non può scomparire. Sotto quale forma esiste essa dunque? Sotto la forma della tensione coesiva generata tra le molecole. Questa tensione coesiva non può cessare d'esistere senza produrre un resultato equivalente. Qual è questo resultato equivalente? Il movimento generato nel diapason, quando ritorna alla sua posizione di riposo.

« Questo stesso movimento che cosa diventa? Bisogna ch'esso continui a rimanere movimento, o che produca una forza correlativa d'un'intensità uguale. Non può continuare come movimento, perchè il cambiamento di luogo è impedito dalla coesione delle parti; esso sparisce dunque in parte per trasformarsi in tensione; questa si trasforma a sua volta nel movimento equivalente, e così di seguito. Se in luogo del movimento ostacolato direttamente dalla coesione delle parti, noi consideriamo il movimento a traverso lo spazio, la medesima verità si presenta sotto un' altra forma. Benchè non sembri esservi altra forza in giuoco, e, per conseguenza, non si veda alcuna causa del ritmo, non di meno il suo proprio movimento accumulato deve, definitivamente, portare il corpo in movimento al di là del corpo che l'attira, e divenire per ciò una forza d'un effetto

differente da quella che l' ha generato. Da questo conflitto nasce necessariamente il ritmo, come nel caso precedente. La forza realizzata come movimento in una data direzione non può essere distrutta; e se essa sparisce, definitivamente, ricomparisce nella reazione sul corpo ritardante, reazione che ricomincia ad allontanare dal suo afelio il corpo arrestato. Così, dunque, il ritmo è una proprietà necessaria di ogni movimento. Essendo data la coesistenza universale delle forze antagoniste, postulato reso necessario, come abbiamo visto, dalla forma della nostra esperienza, il ritmo è un corollario necessario della persistenza della forza. »

Data questa interpretazione generale dello Spencer delle cause del ritmo, come forma universale del movimento, la quale deve necessariamente comprendere anche i ritmi biologici, cerchiamo di stabilire le cause prossime di questi ultimi, vale a dire l'intimo e proprio determinismo dei ritmi funzionali.

A priori si può affermare che, anche qui, un conflitto tra forze antagonistiche ne dev' essere la causa profonda.

Per poter seguire più agevolmente il meccanismo di queste forze, teniamo presenti alla mente, durante il ragionamento, dei ritmi esplicantisi in movimenti di masse visibili, la cui frequenza sia intermedia fra quella degli eccessivamente rapidi e quella degli eccessivamente lenti: p. e., il ritmo cardiaco, il ritmo respiratorio, il ritmo delle ciglia vibratili di alcuni elementi cellulari, o quello dello stelo d' una verticella o d'un vacuolo pulsante, ecc.

Nella sostanza vivente, il movimento è l' espressione del suo metabolismo, e noi ammettiamo che, in generale, alle due opposte fasi d'ogni oscillazione motoria, vale a dire alla fase attiva e alla successiva fase di rilassamento, ovvero alla fase contrattoria ed a quella espansoria, corrispondono le due opposte fasi del metabolismo, la fase catabolica e la fase anabolica, o per lo meno i momenti di maggiore intensità di esse.

La fase anabolica porta la sostanza vivente a un punto, in cui essa raggiunge la massima complessità molecolare e nello stesso tempo la massima instabilità degli atomi che entrano a farne parte, vale a dire la massima tendenza alla disintegrazione,

passando per stadi intermedî, caratterizzati da successiva sempre maggiore complessità atomica delle molecole proteiche e da successive sempre maggiori capacità di queste a decomporsi. Giunta a questo punto, o per stimoli esteriori o per la stessa labilità dei complessi atomici, questi prodotti dell'integrazione chimica, accumulatisi durante la fase anabolica, si scompongono, mettendo in libertà quell'energia che in essi s'era antecedentemente accumulata, la quale energia ricomparisce in parte sotto forma di movimento, in parte sotto forma di calore, o di elettricità, di luce, ecc. Dei prodotti di scomposizione della sostanza vivente, una parte passa allo stato di combinazioni chimiche stabili (CO^2, H^2O, ecc.), nelle quali, cioè, l'energia chimica tensiva è minima o nulla, e che vengono eliminate dall'organismo vivente, come inutili e dannose; ma un'altra parte rimane nell'interno degli elementi morfologici, ed è costituita da sostanze ancora, relativamente alle combinazioni chimiche eliminate, enormemente complesse. In questo residuo organico della primitiva sostanza vivente la sottrazione di alcuni suoi componenti, dovuta alla decomposizione, genera nuove forze di attività reintegrativa, nuove affinità chimiche, che la conducono alla nuova fase anabolica, dato che si trovino sempre in sua presenza le sostanze per cui esso residuo ha affinità particolari, e che incessantemente fornisce, in condizioni normali, l'alimentazione alla respirazione. Per questa assimilazione di nuove sostanze, si compie la nuova fase integrativa, che conduce nuovamente la sostanza vivente, per stadi intermedî successivi al più alto grado di complessità molecolare e di instabilità atomica, e definitivamente all'esplosione, che costituisce la nuova fase catabolica. A questa corrisponde la fase attiva del movimento ritmico, come alla fase anabolica corrisponde la fase di rilassamento.

Come nell'esempio del diapason, dato dallo Spencer, impresso una prima volta il movimento a una delle sue branche, per il principio della persistenza dell'energia e della coesistenza universale delle forze antagonistiche, il movimento stesso deve continuare in forma ritmica finchè le condizioni esteriori non l'abbiano esaurito; così, nel caso nostro, dato il principio fondamentale dell'affinità chimica, i prodotti di decom-

posizione della sostanza vivente torneranno sempre nuovamente a ricostituirla, e per il fatto dell'instabilità atomica delle combinazioni complesse, queste torneranno sempre nuovamente a disintegrarsi, in forma esplosiva, generando un'alternativa di integrazione e di disintegrazione, ossia un ritmo di movimento trofico, cui corrisponde il ritmo meccanico visibile, finchè la possibilità dell'integrazione è mantenuta sia dal continuo giungere di sostanza assimilabile, sia dalla continua eliminazione delle sostanze, che hanno perduto, nell'atto dell'esplosione, la capacità di tornare a far parte della nuova sostanza vivente.

Perchè il movimento fosse continuo, in vece che ritmico, bisognerebbe fosse possibile una disintegrazione continua della sostanza vivente, bisognerebbe che la sostanza vivente potesse fare a meno di reintegrarsi: il che è assurdo. Inoltre, dato che ciò fosse possibile, coll'esaurirsi della provvista di sostanza disintegrabile, dovrebbe necessariamente cessare il movimento, ed aversi un riposo definitivo. In vece, nel meccanismo del movimento ritmico è esclusa ogni possibilità di riposo, di pausa, fino a che permangano le condizioni necessarie al generarsi del ritmo.

Le forze antagonistiche, nel nostro caso, sono l'integrazione e la disintegrazione, l'affinità chimica e la estrema mobilità degli atomi degli elementi che entrano a far parte della sostanza vivente (C, H, N, O). Questi elementi hanno un peso atomico assai basso, il che, mentre agevola, a parità di massa, la costituzione di complessi molecolari enormi con un numero di atomi straordinariamente grande, rende anche simili complessi molto instabili, per il fatto che le oscillazioni di questi atomi sono relativamente molto ampie e la loro forza viva molto grande.

La causa del ritmo funzionale risiede, dunque, nel ritmo trofico che si svolge nell'interno degli elementi morfologici, ed ha la sua ragione ultima nel conflitto permanente tra le due forze: integrativa e disintegrativa, per cui le molecole della

sostanza vivente giunte a un massimo di complessità atomica, grazie alla prima di queste due forze, cadono necessariamente in balìa della seconda; di nuovo i « residui biogenici » (chiamerò così, col Verworn, la parte della sostanza vivente che non viene eliminata, secondo il concetto di L. Hermann) per la prima delle due forze antagonistiche, che non è altro che l' affinità chimica, rimontano la scala ascendente della reintegrazione, per tornare di nuovo a scomporsi, per il fatto d' aver raggiunto un grado molto alto di complessità e d'instabilità, e forse anche una speciale struttura molecolare.

In questo giuoco delle due forze più volte ricordate, risiede però, secondo me, non solamente la causa del ritmo funzionale della sostanza organica vivente, ma anche vi si potrebbe scorgere l' origine dell' automatismo.

Noi conveniamo di chiamare funzione automatica, quella che non trova il suo determinismo in stimoli esteriori. Ma funzione automatica, *sensu strictiori*, non è nemmeno quella che trova il suo determinismo in stimoli interni, inaccessibili ai nostri sensi; poichè, anche in tal caso, gli stimoli interni rimangono pur sempre esteriori ed estranei alla sostanza funzionante. Funzione automatica, nel vero senso della parola, dovrebbe essere intesa solamente quella che si svolgesse all'infuori d' ogni stimolo esterno od interno, per le sole forze attive nel seno della sostanza funzionante medesima. Se noi immaginiamo un composto chimico, che, per le condizioni dinamiche medesime in cui vengono a trovarsi i suoi atomi a un certo punto della sua formazione, si scompone, mettendo in libertà dell' energia, il movimento atomico e il movimento di massa che da tale trasformazione dell' energia risulterebbe, noi potremmo con buone ragioni chiamare *movimento automatico*. Ma se il composto chimico, anche giunto al suo più alto grado di complessità atomica, ha bisogno che una causa estrinseca aumenti l' intimo movimento oscillatorio dei suoi atomi, perchè esso si scomponga, noi siamo già lontani dal concetto del puro automatismo.

Possiamo, per altro, ammettere che un impulso primitivo abbia iniziato la serie dei moti ritmici, nel primo apparire della

vita d'un organismo, e che questa specie di *primum movens* degl' innumerevoli ritmi funzionali che si svolgono in ciascuno organismo sia rappresentato dall' atto della fecondazione.

Ben diverso è il caso, che speciali *condizioni* esteriori siano necessarie perchè la disintegrazione d' una sostanza si compia automaticamente. Queste *condizioni* esteriori indispensabili non possono esser considerate come stimoli. Così, p. e., se un composto chimico ha bisogno di O^2 atmosferico per ossidarsi, scomponendosi, noi non diremo che in tal caso l'O^2 ha agito come stimolo, ma come *condizione* necessaria, perchè la scomposizione ossidativa del composto abbia luogo. Per contro, anche, se l' accumularsi d' una data sostanza chimica intorno a un composto chimico, impedisce che questo si disintegri, noi non diremo che l' allontanamento della prima agisca come *stimolo* sul secondo, provocandone la disintegràzione, ma diremo che l' assenza, o la presenza della prima sostanza solo in quantità piccolissima, è una condizione necessaria perchè la disintegrazione del composto chimico abbia luogo.

Noi abbiamo il diritto di pensare che non solamente per l' integrazione della sostanza vivente siano necessarie delle speciali *condizioni* esteriori (presenza di sostanze integrabili, condizioni di temperatura, di pressione, ecc.), che l'affinità chimica utilizza, ma che analoghe condizioni siano indispensabili anche perchè si verifichi la disintegrazione della sostanza vivente (eliminazione dei prodotti delle disintegrazioni precedenti, presenza di O con cui una parte dei prodotti di disintegrazione si lega formando composti stabili, temperatura, ecc.). Ora a me sembra che sia relativamente facile scambiare queste condizioni esteriori con i veri stimoli, per la qual cosa ho voluto insistere sopra questa differenza.

Esempi di sostanze chimiche disintegrantisi *automaticamente*, per effetto delle sole forze inerenti ad esse medesime, non conosciamo nella natura inorganica; giacchè la facile scomposizione esplosiva del cloruro e joduro d' azoto, dell'acido azotidrico e suoi derivati, dell' acetilene, della nitroglicerina, ecc., è pur sempre dovuta a cause esteriori, per quanto lievi possano essere.

Sono i complessi molecolari, che costituiscono la sostanza vivente, che noi dobbiamo pensare essere al più alto grado dotati di simile proprietà, sia per il fatto della loro grandezza, sia per una particolare disposizione degli atomi nei varî gruppi e di questi stessi nell'interno dei complessi anzidetti.

A dire il vero, io ho ripetutamente parlato sinora dell'enorme complessità molecolare come causa principale della facile disintegrazione della sostanza vivente. Noi non abbiamo alcun diritto di cercare fra i corpi inorganici esempi di questo particolar modo di scomporsi della medesima. Per ciò, gli esempi contrari, relativamente numerosi, di corpi che polimerizzandosi, divenendo più e più complessi, diventano anche più stabili, non infirmano minimamente il concetto che noi abbiamo della molecola di sostanza vivente, vale a dire che essa sia molto complessa e automaticamente disintegrabile.

Pure, mi sembra utile, accanto al concetto della complessità molecolare, introdurre anche quello della particolar disposizione degli atomi e dei gruppi atomici, come caratteristica della molecola della sostanza vivente, non che quello dell' eventuale e speciale stato di jonizzazione di essa, per rendersi ragione della sua grande instabilità.

Pur tuttavia noi dobbiamo indicare la causa stessa dell'enorme complessità molecolare che può raggiungere solo la sostanza vivente, come la causa vera della disintegrazione esplosiva — da noi detta *automatica*. E questa causa dev'esser la grande capacità della sostanza vivente a divenire sempre più complessa, ad assimilare sempre nuovo materiale: in una parola, il *suo continuo divenire*. Senza questa indefinita capacità d'accrescimento, (che è oltremodo sviluppata negli organismi in via di formazione, e sembra descrivere una curva lentamente digradante con la vita degli individui) noi non potremmo renderci ragione della repentina disintegrazione della sostanza vivente a un certo momento della sua progressiva formazione. Noi potremmo, in vero, immaginarla fatta enormemente complessa, e pure in stato d'equilibrio. Ma l'assimilazione di un nuovo gruppo atomico, a un certo momento della sua costituzione integrativa, altera improvvisamente quell'equilibrio, ed essa passa —

criticamente, come in alcuni fenomeni fisici — nella fase disintegrativa. Ciò non è, però equivalente all'intervento di uno stimolo esteriore, poichè l'assimilazione dell'ultimo gruppo atomico è dovuta alla stessa forza ad essa inerente che ha portato a quel punto la sostanza in via di formazione; mentre nell'esplosione delle altre sostanze chimiche, è sempre una forza esteriore, più o meno intensa, ma di differente natura, che agisce.

Nella sostanza vivente risiedono dunque le condizioni determinanti la ritmicità e l'automatismo; e, per le cose dette avanti, queste due proprietà sono così necessariamente connesse tra loro e vicendevolmente dipendenti, che noi non possiamo immaginare un movimento automatico che non sia ritmico, e un movimento incessantemente ritmico, che non sia automatico.

La stessa causa determinante l'automatismo, cioè la disintegrazione della sostanza vivente, conduce alla ripetizione del processo chimico, vale a dire al ritmo: onde ogni movimento automatico dev'essere necessariamente ritmico.

Noi abbiamo voluto, durante questo ragionamento, aver presenti alla mente i ritmi di funzioni motorie di organi ed organismi viventi, perchè ci riuscisse più facile penetrare nel loro meccanismo; però anche le altre funzioni si svolgono in forma ritmica.

Si pensi alla veglia ed al sonno, all'ovulazione ed al fenomeno concomitante della mestruazione, ai cambiamenti periodici, che si verificano nelle piante e negli animali, i quali accompagnano i cambiamenti delle stagioni, ecc., e si vedrà, che dovunque noi incontriamo le espressioni della vita vegetale ed animale verificarsi in forma ritmica.

Per quello che ne sappiamo finora, un ritmo può essere *autoctono*, se le cause che lo determinano esistono nell'interno dell'organo medesimo che lo presenta, *eteroctono*, se è comunicato all'organo da centri situati fuori di lui mediante fili nervosi; *continuo*, se l'organo non cessa mai, durante tutta la sua

vita, di funzionare ritmicamente; *intermittente*, se si presenta solo in date epoche, corrispondenti all' attività funzionale dell'organo, mentre tace durante il riposo funzionale del medesimo; *periodico*, se forma dei gruppi separati da intervalli più o meno regolari di riposo; *semplice*, se è costituito dalla ripetizione incessante e uniforme di un unico e identico fenomeno; *composto*, se più ritmi, più o meno differenti per natura, genesi, norma, coesistono simultaneamente nel medesimo organo e si estrinsecano simultaneamente, interferendo o no fra loro; *automatico*, se non è provocato da stimoli interni, a noi inaccessibili, o esterni; *provocato*, se stimoli interni o esteriori, di natura meccanica, termica, chimica, elettrica, luminosa, ecc., ne sono la causa determinante; *regolare*, [1] se la successione dei moti singoli si fa ad intervalli eguali, e la durata dei moti e degli intervalli è sempre la stessa, e l'intensità di ciascun moto è costantemente eguale; *irregolare* nel caso contrario.

I ritmi possono, poi, variare infinitamente, per variare di frequenza, di forma, di estensione, ecc., ecc.; come anche varietà numerose di ritmi possono aversi per il combinarsi delle specie ritmiche dianzi ricordate. Così possiamo avere un *ritmo autoctono intermittente* (p. es. nello stomaco, uretere, ecc.), un *ritmo autoctono composto* (p. es. negli atri del cuore di tartaruga e di rana), un *ritmo eteroctono continuo composto* (p. es. nell' apparato della meccanica respiratoria), un *ritmo autoctono automatico continuo semplice* (p. es. quello del cuore in *toto*), un *ritmo autoctono provocato semplice* (quello della punta di cuore, come nelle esperienze di Merunowicz, Marey, ecc.); e così via. Dati questi esempi, sarà facile a ciascuno classificare qualunque dei moti ritmici che verrò enumerando qui appresso.

Io voglio, infatti, prima di venire a ragionare del ritmo cardiaco e delle sue cause, enumerare alcuni ritmi, che meno

(1) Uno studio speciale dei ritmi *regolari* e *irregolari*, e una dottrina sulla genesi del *ritmo regolare*, inteso secondo i concetti teorici qui esposti, si trovano in una mia memoria di prossima pubblicazione: « Sulla fisiologia del tessuto muscolare liscio »; Pubblic. del R. Istituto di Studi Superiori, Carnesecchi, Firenze.

frequentemente occorre di osservare, a fine di dimostrare con esempi pratici la generalità del principio, che ogni movimento funzionale si svolge in forma ritmica.

Fra i movimenti ritmici degli organi muscolari cavi dell'organismo animale, ricorderò i movimenti peristaltici dell'intestino, dell'uretere del coniglio e del topo, le oscillazioni del tono della vescica, studiate dal Mosso, le contrazioni ritmiche dell'*Antrum pylori*, osservate e registrate recentemente dal Moritz.

Per lo più, questi sono movimenti ritmici poco regolari più o meno lenti, intercorrenti, non sempre provocati dalla stimolazione meccanica (e talora anche chimica o termica) delle

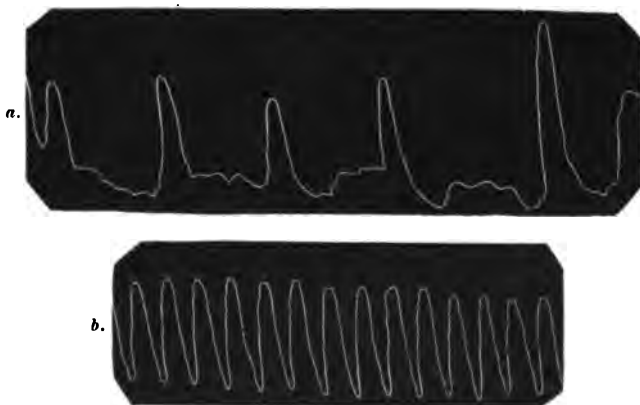



FIGURA 1. — *a.* Contrazioni ritmiche d'un preparato esofageo di *Bufo vulgaris*. *b.* Idem di *Bufo viridis*. (Temp. 14,5° C.).

sostanze che vengono temporaneamente a trovarsi in maggiore o minor quantità nell'interno degli organi ricordati.

Io stesso ho recentemente osservato una doppia funzione motoria ritmica in listerelle di parete esofagea, resecate in direzione longitudinale o trasversale dall'esofago di rana o di rospo, di embrione di pollo o di uccello adulto. Gli elementi muscolari lisci del preparato, di cui registravo i movimenti, compiono delle contrazioni ritmiche, più o meno lente, più o meno regolari, svolgentisi lungo una linea retta o sopra una

linea ondulata, indicante un secondo ritmo simultaneo più o meno accentuato.

Nessuno stimolo era esercitato sul preparato muscolare, all' infuori della trazione meccanica esercitata dalla leva registrante i suoi movimenti.

FIGURA 2. — Contrazioni ritmiche e lievi oscillazioni del tono d' un preparato esofageo di *Rana esculenta*. (Temp. 14° C.).

a *b*

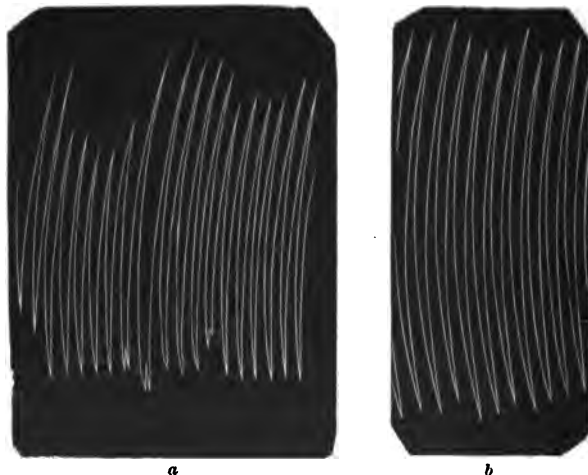



FIGURA 3. — *a* e *b*. Movimenti ritmici del piloro d' un cane. (Dal Ducceschi).

Simili movimenti ritmici composti ha osservato anche il Ducceschi nei vari segmenti dello stomaco di cane lasciato *in situ*. Qui il fenomeno motorio registrato sul cilindro affumicato rotante aveva necessariamente un' origine più complessa, e si presta quindi meno ad una interpretazione generale, giacchè i vari strati muscolari simultaneamente potevano influire sulla resultante rappresentata dalla linea del movimento graficamente registrato.

Invece nelle listerelle esofagee da me adoperate il tracciato rappresenta semplicemente i movimenti ritmici dello strato longitudinale o dello strato circolare di cellule muscolari costituenti la tonaca muscolare dell'organo, come a dire di un muscolo liscio piatto composto di elementi disposti sempre in una sola direzione. Non mi sembra inutile, in fine, ricordare che in queste mie ricerche, non solamente l'organo era separato dal corpo dell'animale, ma ogni connessione fisiologica ed anatomica tra esso e i nervi che normalmente vi si portano era distrutta, sebbene la listerella di tessuto esofageo contenesse pur sempre la sua parte di cellule gangliari e di filamenti nervosi, in mezzo ai suoi strati. La durata di simili movimenti ritmici è, in alcuni casi, relativamente enorme, sì che poca probabilità avrebbe la supposizione che essi derivassero da stimoli ritmici emananti dagli elementi nervosi contenuti nel preparato muscolare.

Movimenti ritmici autoctoni furono osservati anche nei cuori linfatici, nei vasi linfatici del mesentere del bove (Colin) e della cavia (Heller), nei vasi sanguigni dell'orecchio del coniglio (Schiff), nelle vene (così detti *cuori venosi*) dell'ala del pipistrello (Wharton Jones, Luchsinger), nei vasi cerebrali (Mosso), splenici (Roy), ecc. E l'Engelmann potè osservare sopra piccole arterie della *Membrana nictitans* dell'occhio di rana estirpato, come sopra quelle della membrana natatoria di zampe di rane anch'esse separate dal corpo, contrazioni periodiche regolari spontanee o seguenti a breve stimolazione meccanica (pressione con una punta di spillo), le quali duravano lungo tempo ed erano limitate ad una o poche cellule muscolari della tonaca media dei vasi sanguigni.

Ma la causa del movimento può risiedere fuori dell'apparecchio, come, p. es., è per l'apparecchio respiratorio; e anche in questo caso il ritmo, se bene eteroctono, può essere composto. Già il Gad aveva dimostrato l'esistenza di un ritmo composto nei moti respiratori, che fu poi particolarmente illustrato dal Mosso. Questi osservò come « la posizione di riposo che prendono il diaframma ed i muscoli del torace alla fine di ogni respirazione non è una posizione costante. Indipendentemente

dai singoli movimenti respiratori vi sono dei periodi di maggiore o minore attività del centro respiratorio, che modificano i diametri della cassa toracica. » Ma il ritmo respiratorio può essere anche in altro modo modificato e può presentarsi in forma periodica, in condizioni speciali, come il Bert, il Fano ed altri hanno osservato. I rapporti tra forme periodiche e ritmiche, le cause della trasformazione d'una forma ritmica continua in una periodica, ecc.: tutti questi argomenti, di così alta importanza fisiologica, hanno trovato nel Fano un appassionato cultore, il quale vi ha dedicato gran parte della sua attività di sperimentatore e di pensatore, studiandoli nella funzione cardiaca, respiratoria, motoria dei centri encefalici, e psichica.

Però, benchè la causa determinante il ritmo respiratorio sia fuori dell'apparecchio omonimo, i vari organi muscolari di quest'ultimo presentano anche un'attitudine speciale ai movimenti ritmici.

Prima nel diaframma furono osservate contrazioni ritmiche, nell'uomo e negli animali superiori, anche lungo tempo dopo la morte. J. Budge osservò nel 1842 che « dopo la morte dell'animale il diaframma rimane per una buona mezz'ora, talora anche più, in un continuo movimento tremolante. Si vede — egli dice — un continuo oscillare in alto e in basso, e talora, specialmente negli animali più vecchi, questo movimento oscillatorio dura più a lungo del battito cardiaco. » Lo stesso osservarono Valentin e Volkmann.

Remak vide il diaframma muoversi ancora 48 ore dopo la morte, dopo che ogni traccia di vita era spenta nel sistema nervoso.

Quest'osservazione fu confermata da Brown-Séquard e da Vulpian.

Richet osservò nel 1881 in un cane, dopo la morte, movimenti muscolari spontanei *ritmici*, che durarono circa 55 minuti, mentre il cuore era stato asportato dal corpo e perciò la circolazione abolita. Erano contrazioni nelle estremità anteriori e nel diaframma, seguentisi con intervalli di circa 4-10 secondi.

Sono state fatte altre simili osservazioni in altri muscoli

del corpo, per es. nei muscoli della faccia dei cadaveri di colerosi (M. Brandt), in arti amputati (Bennet, Dowler), nei muscoli linguali dopo il taglio del n. XII, ecc.

Notissima è l'esperienza, per cui gli arti di una grande preparazione alla Galvani immersi in una soluzione diluita di acido solforico (0,5-1,0 $^{0}/_{00}$), dopo un certo tempo, cominciano a fare movimenti ritmici più e più estesi (Türck, W. Baxt e Stirling); e note sono anche le esperienze di Ranvier e di Biedermann, i quali riuscirono a provocare contrazioni ritmiche seguentisi con sufficiente regolarità, stimolando con correnti elettriche o con sostanze chimiche muscoli striati di rana, sottratti all' influenza nervosa mediante il curare; e le esperienze di Langendorff, nelle quali, in seguito all'applicazione locale o generale di alcune sostanze chimiche (alcaloidi, glicosidi, acidi, sali di metalli pesanti, ecc.) si presentano *pulsazioni pseudoautomatiche*, dovute o a che la sostanza provoca nel muscolo direttamente le dette contrazioni o a un aumento della sua eccitabilità, per cui risponde con contrazioni ritmiche a stimoli che prima non valevano a provocarle.

Ricordo, finalmente, che Schiff, osservò dei movimenti ritmici sopra pezzi di diaframma privi affatto di elementi nervosi gangliari, nei muscoli intercostali dei gatti, nel muscolo opercolare dei ciprini e nei muscoli dell' apparecchio joideo delle lucertole.

La massima parte dei movimenti ritmici ricordati finora sono di natura automatica. In generale tutti gli organi capaci di presentare movimenti ritmici spontanei, godono della proprietà di rispondere con movimenti ritmici alle stimolazioni esteriori, di qualsiasi natura esse siano, anche dopo che la funzione automatica s' è arrestata. Abbiamo già ricordato, però, anche le esperienze di Biedermann e di Ranvier, sui muscoli scheletrici, le quali ci dimostrano che movimenti ritmici possono essere artificialmente provocati anche in organi e tessuti normalmente privi di automatismo. A queste vanno aggiunte le osservazioni di S. Ringer, il quale, immergendo muscoli striati di rana in soluzioni saline determinate, ottenne delle contrazioni ritmiche più rapide, e più lenti movimenti ondu-

lati, da ricordare molto da vicino alcuno dei tracciati di esofago di embrione di pollo o di pulcino, da me recentemente ottenuti.

La ritmicità è dunque una proprietà molto più diffusa dell' automaticità, almeno nello stato adulto degli esseri viventi. Osservazioni che provano quanto fin qui ho detto non mancano nella letteratura fisiologica comparata.

Il Romanes dimostrò che stimoli continui siano chimici, termici o elettrici (corrente costante), quando non siano troppo forti, provocano nelle Meduse contrazioni ritmiche molto simili ai loro movimenti naturali.

Anche il De Varigny descrisse dei movimenti ritmici nelle cellule muscolari delle Meduse, che per tante ragioni presentano notevoli analogie col muscolo cardiaco, e nel *jabot* dell'*Eledone moscata*, e nei muscoli della *Sepia officinalis.*

Osservazioni analoghe fece lo stesso Romanes nei Rizostomi.

Ora, secondo il De Varigny, tutti questi movimenti ritmici andrebbero compresi nella categoria dei fenomeni indicati col nome di *tetano ritmico;* e appunto le non poche osservazioni raccolte sotto questa denominazione dimostrano che movimenti ritmici, indipendentemente da ogni influenza nervosa possono osservarsi in muscoli per struttura e funzione assai diversi tra loro e dal muscolo cardiaco. Il fenomeno del *tetano ritmico* consiste in ciò, che, sulla curva tetanica registrata da un preparato muscolare stimolato con correnti elettriche adeguate e di intensità conveniente, si vedono piccole ondulazioni, il cui ritmo, la cui frequenza ed ampiezza sono affatto indipendenti dalla frequenza dello stimolo, ma sono propri del preparato muscolare, determinati dalla sua natura specifica. Dopo che il Ranvier descrisse il tetano ritmico del cuore di rana e dei muscoli rossi del coniglio, e l' Engelmann un fenomeno simile nel bulbo aortico della rana, il Richet osservò anche oscillazioni ritmiche sulla curva tetanica dei muscoli di gambero, e Livon in quella di muscoli di rana avvelenata con acido salicilico. Da ultimo lo Schönlein potè constatare il fenomeno del tetano ritmico nei muscoli di Dyticus e di Hydrophilus; osservò, cioè, o

contrazioni ritmiche semplici (nel Dyticus), o tetano interrotto ritmicamente (nell' Hydrophilus e nel gambero), o finalmente contrazioni separate da pause di lunghezza varia. Nelle esperienze dello Schönlein, erano mandati al preparato muscolare non meno di 880 stimoli di corrente indotta al secondo: una frequenza, cioè, enormemente superiore alla frequenza del ritmo funzionale.

*
* *

Passando, poi, dai matazoi ai protozoi, va ricordato come il protoplasma di molti protozoi presenta contrazioni ritmiche, e che tale analogia con la sostanza muscolare dei metozoi è basata sul fatto che tanto il protoplasma, contraentesi in una determinata direzione e con una certa rapidità, quanto la sostanza muscolare sono doppiamente rifrangenti. Ciò ha dimostrato l' Engelmann nei raggi dell' *Actinosphaerium Eichhornii*, negli spermatozoi della rana e nell' asta delle Varticelle, la quale ultima è capace di compiere contrazioni ritmiche, anche indipendentemente da stimoli esteriori. Le contrazioni e le espansioni ritmiche dei prolungamenti protoplasmatici di quasi tutti gli organismi unicellulari, e le pulsazioni ritmiche dei vacuoli contenuti nell' interno del loro corpo protoplasmatico, non che delle ciglia onde il corpo di alcuni di loro è rivestito, son fatti troppo noti perchè meritino più di un semplice accenno, e dimostrano come anche il protoplasma indifferenziato è capace di movimenti ritmici.

Accanto a questi, vanno ricordati i movimenti ritmici delle cellule epiteliali ciliate, che tapezzano alcune superfici mucose negli animali superiori. Benchè l' Engelmann abbia affermato che alcune cellule ciliate siano sotto la diretta influenza del sistema nervoso, ciò non sembra però rigorosamente provato. Anzi il Krukenberg ha dimostrato che nella Beroë gli stimoli nervosi non raggiungono le ciglia, che funzionano sempre automaticamente, ma valgono ad arrestarne il movimento solo in via indiretta.

Degne d' essere ricordate sono anche le onde di contrazione peristaltiche e periodiche, che si possono seguire al mi-

croscopio sulle singole fibre muscolari delle larve di *Corethra* (Laulanié, Rollett) presso a morire, o sulle fibre muscolari d'insetti di recente isolate dal corpo. Il fatto osservato dal Rollett, che il punto di partenza di queste onde di contrazione *per lo più* coincide con una collinetta di Doyer, non esclude che il movimento ritmico possa essere puramente miogeno.

Ma chi volesse fare un' enumerazione completa degli innumerevoli esempi di moti ritmici, che si possono osservare nelle infime classi degli esseri viventi, avrebbe ancora molto da aggiungere.

Io mi limiterò, per finire, a ricordarne due altri soli.

La vescicola contrattile, che è un organo d'escrezione differenziatosi fra l'ectoplasma e l'endoplasma dei rizopodi, dei flagellati e della maggior parte dei ciliati, presenta dei movimenti ritmici di sistole e di diastole, mediante i quali espelle all'esterno i prodotti liquidi del metabolismo del piccolo essere unicellulare. Secondo le osservazioni di Rossbach e di Maupas, il numero delle contrazioni ritmiche non varia che sotto l'influenza della temperatura, vale a dire in ragione dell'intensità dello scambio nutritivo dell'organismo. Sembra certo che le vescicole contrattili non hanno pareti proprie, ma sono delle semplici escavazioni nel citoplasma.

Häcker ha osservato che nel nucleo delle ova degli echinodermi esistono due specie di vacuoli, i quali sono animati d'un ritmo periodico che dura, sotto l'osservazione, da 4 a 8 ore. Durante la diastole del vacuolo centrale più grande, si vede i vacuoli periferici diminuire di numero e di volume; durante la sistole, i vacuoli periferici, aumentano. Le pulsazioni ritmiche di questi vacuoli avrebbero un ufficio importante nella nutrizione del nucleolo, del nucleo e della cellula intiera. Infatti, molto prima dell' Häcker, Balbiani aveva considerato il nucleolo come una specie d'organo centrale della circolazione, come un cuore della cellula.

Fra questi fenomeni ritmici io oso noverare anche gli sprazzi di luce ritmicamente emananti dall'organo luminoso delle lucciole (Pflüger). Nè l'analogia è superficiale, giacchè noi abbiamo delle ragioni per rassomigliare questo fenomeno

ritmico alle contrazioni ritmiche di un organo muscolare automatico. Infatti:

1. Gli sprazzi ritmici di luce sono aboliti dalla massima parte dei veleni muscolari, e in special modo dai narcotici e dagli anestetici; cessata l'azione delle quali sostanze, il fenomeno può riprodursi nella medesima forma di prima.

2. Si può ottenere, mediante stimoli meccanici intensi, che il luccicore emanante dall'organo luminoso delle lucciole divenga apparentemente continuo: fenomeno, il quale, secondo l'opinione del Massart, che si è occupato in modo speciale di questi studi, è analogo al tetano muscolare.

Del resto, è bene tener presente che tanto il fenomeno meccanico della contrazione muscolare quanto il fenomeno luminoso dianzi mentovato, non sono che due diverse manifestazioni dell'unica energia chimica raccolta nella sostanza vivente degli elementi cellulari del muscolo o dell'organo luminoso.

*
* *

Vogliamo a bella posta raccogliere insieme, in fine di questo capitolo, tutti i fenomeni della ritmicità cardiaca, perchè direttamente ci conducano alla discussione delle cause loro, che formerà oggetto della seconda parte di questo scritto.

Tutti i segmenti del cuore sono dotati di ritmicità, dalle terminazioni dei grossi tronchi venosi negli atri alla punta ventricolare, e da questa al bulbo aortico. Però, mentre il potere ritmico del seno venoso e degli atri è anche automatico, quello della « punta di cuore » può essere solamente provocato mediante stimoli artificiali di qualsiasi natura, continui o ritmicamente interrotti.

Ciò è vero, del resto, per il cuore adulto dei vertebrati, giacchè nei primi stadi dello sviluppo embrionale (Fano) e negli invertebrati, non che nei pesci, anche il segmento omologo alla porzione ventricolare del cuore adulto è dotato di potere ritmico automatico; anzi il Gaskell volle estendere tale automaticità anche ai ventricoli della tartaruga. Ciò non ostante, non solamente il potere ritmico, ma anche l'automaticità del

segmento ventricolare sono sempre molto meno accentuati che negli altri segmenti cardiaci. Sembra anzi che una degradazione dell'uno e dell'altra esista in ogni cuore, adulto o embrionale, dal seno venoso al bulbo aortico.

Oltre a ciò, secondo alcune esperienze di M. William, la stessa natura della ritmicità sembra essere differente nei vari segmenti del cuore: la ritmicità del seno venoso è, in ogni caso, la più forte, e governa nella ragione del ritmo tutti gli altri segmenti, il cui potere ritmico rimarrebbe, secondo quell'osservatore, vita durante, in stato latente. Separati i vari segmenti cardiaci l'uno dall'altro, in ciascuno, dopo un tempo più o meno lungo, entra in azione la propria ritmicità; e solo il ritmo del seno isolato è identico al ritmo del cuore *in toto*. È chiaro, dunque, che qualsiasi agente esteriore, per modificare il ritmo dell'intero cuore, bisogna che eserciti la propria azione sul seno venoso, vale a dire sul segmento, in cui han sede l'automatismo e la ritmicità più forti: e Gaskell, infatti, osservò che riscaldando separatamente il segmento senoatriale e il segmento ventricolare, solo nel primo caso si ottiene un aumento della frequenza dei battiti cardiaci.

Ma non solamente gl'intieri segmenti cardiaci sono dotati di potere ritmico: l'Engelmann vide, sotto il microscopio, singole cellule miocardiche pulsare ritmicamente e indipendentemente le une dalle altre, in frammenti moribondi di cuore, e con differente frequenza, alla stessa maniera come si sa avvenire delle ciglia di cellule vicine, vibranti con vario ritmo e frequenza.

La funzione ritmica dei vari segmenti cardiaci è stata investigata in modo speciale da vari autori.

La funzione ritmica dei segmenti non automatici sarà trattata in seguito, poichè, essendo privi di elementi nervosi gangliari, essi servirono a confortare la dottrina miogenica del ritmo cardiaco.

Quanto agli altri segmenti, dotati di automatismo, ricordo qui, in modo speciale, le ricerche di Tigerstedt e Strömberg sul seno venoso del cuore di rana, quelle recentissime di Engelmann sulle terminazioni centrali dei tronchi venosi, quelle

di Fano e le mie sugli atri rispettivamente dell'Emys europaea e dei batraci.

In generale si può dire che da tutte queste ricerche risulta le proprietà fondamentali ed elementari del miocardio essere comuni a tutti i segmenti del cuore: non v'ha fenomeno dimostrato nei ventricoli, che non possa essere ripetuto, con uguale successo sugli altri segmenti cardiaci, benchè con qualche modificazione secondaria; ad eccezione di alcuni, sui quali mi voglio particolarmente intrattenere, rimandando il lettore ai lavori originali, per ciò che riguarda i rimanenti.

Le « oscillazioni del tono atriale » sono uno di questi peculiari fenomeni, che il Fano per primo scoprì negli atri del cuore di Emys europaea. Egli osservò che « le pulsazioni perfettamente ritmiche delle orecchiette si fanno sopra una linea di tonicità ritmicamente oscillante e riproducente, con una certa approssimazione, la forma delle pulsazioni cardiache ordinarie. » Egli osservò, inoltre, che, « mentre la funzione fon-

a. b.

FIGURA 4. — *a*. Oscillazioni del tono atriale del cuore di *Emys europaea*.
b. Idem. Forma differente. (Temp. 13°,5 C.).

damentale è, come d'ordinario, perfettamente sincrona, le oscillazioni del tono decorrono quasi sempre con una assoluta indipendenza nei due atri; » ciò che lo indusse ad ammettere che « il ritmo del tono si debba al contrarsi di parti diverse da quelle che determinano il ritmo della funzione. »

Recentemente un identico fenomeno ho constatato anch'io negli atri del cuore di anfibi, con caratteri simili; e, basandomi sulla comunanza di esso con il fenomeno analogo già da

me stesso osservato nel tessuto muscolare liscio dell'esofago di anfibi e di embrione di pollo, e dal Ducceschi nello stomaco di cane, e, considerando che il fenomeno in questione sembra che si presenti solamente negli elementi muscolari assai ricchi di

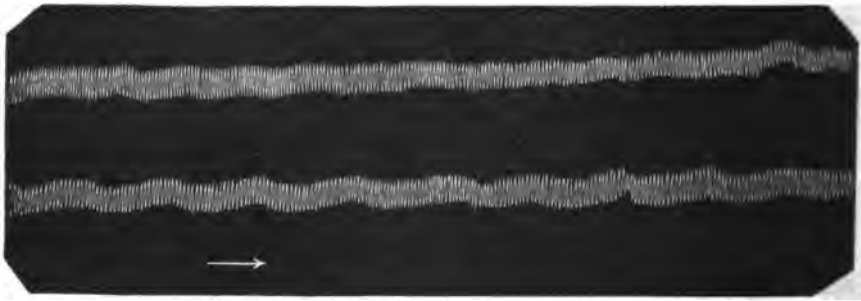



FIGURA 5. — Oscillazioni del tono atriale del cuore di *Bufo viridis*. (Temp. 14°,5).

sarcoplasma, oltre che per ragioni diverse d'indole generale, ho creduto di poter affermare, che le « oscillazioni del tono » non siano altro che contrazioni ed espansioni ritmiche del sar-

FIGURA 6. — Idem (ved. figura precedente) di *Rana esculenta*.

coplasma degli elementi muscolari, mentre le contrazioni fondamentali più frequenti son dovute alla sostanza birefrangente dei medesimi.

Noi non potevamo trovare esempio più chiaro e preciso di un doppio ritmo, svolgentesi contemporaneamente in uno stesso organo muscolare, indipendentemente da ogni funzione nervosa.

Un'altra particolarità di alcuni speciali punti del tubo cardiale (grossi tronchi e atri venosi, regione di passaggio dagli atri ai ventricoli, bulbo aortico) è quella di rispondere con una

serie di contrazioni ritmiche anche ad uno stimolo unico, mentre, p. e., i ventricoli rispondono con un'unica contrazione. Secondo ricerche di Gaskell, di His jun. e Romberg, in questi punti, che si riscontrano nel cuore dei più svariati animali, la

FIGURA 7. — Contrazioni fondamentali e oscillazioni del tono del cardias di cane.

parete miocardica offre un aspetto particolare, che ricorda quella del miocardio embrionale. Il fenomeno accennato va inoltre inteso come un effetto del maggiore automatismo della muscolatura di questi punti; così che spontaneamente noi siamo indotti a ravvicinare i due fatti del maggiore automatismo e della struttura embrionale dei punti indicati, in un rapporto di dipendenza del primo dalla seconda. In fatti da una parte noi troviamo che il punto da cui partono gl'impulsi ritmici al moto del cuore è, dovunque, costituito di elementi morfologici a tipo embrionale; e dall'altra parte sappiamo che nel cuore embrionale (di pollo) l'automatismo è diffuso sopra tutto quanto il tubo cardiale (Fano).

Probabilmente il maggiore automatismo e il più accentuato potere ritmico, in generale, e, in specie, di queste parti, è dovuto alla più sviluppata capacità anabolica degli elementi morfologici embrionali o conservanti il tipo embrionale. Se tali proprietà troviamo spesso anche in alto grado sviluppate nel

tessuto muscolare liscio, egli è, forse, anche perchè i suoi elementi morfologici sono più vicini agli elementi muscolari embrionali.

***

Abbiamo visto, dunque, come una quantità di svariati fenomeni, strettamente legati all'esistenza dell'individuo, si svolgano in forma ritmica, e come la forma ritmica dell'estrinsecazione funzionale d'ogni movimento chimico interno sia comune ad un prolungamento del corpo protoplasmatico di un protozoo o alle ciglia della cellula epiteliale vibratile, come all'antro pilorico dello stomaco o all'apparato respiratorio. Movimenti semplici, aventi il loro determinismo nel metabolismo del corpo protoplasmatico del piccolo organismo in cui si svolgono, movimenti complessi, come quelli cui convergono più organi sotto il governo unico di un organo superiore centrale, si svolgono tutti ritmicamente.

Se noi estendessimo ancora il nostro esame, e penetrassimo col nostro sguardo in altri meccanismi vitali, troveremmo probabilmente che nessun fenomeno biologico si svolge altrimenti che in forma ritmica; giacchè i ritmi, i quali a noi sono solamente accessibili, non sono, come i colori ed i suoni, che una piccola parte dell'immensa gradazione loro, dell'indefinita scala che ha per termini estremi pensabili da una parte il movimento ritmico degli astri e dall'altra le oscillazioni ritmiche dell'etere cosmico e degli atomi della materia ponderabile.

Il ritmo è dunque una resultanza necessaria delle condizioni cosmiche, e, volendo rimanere nei nostri confini, esso è la forma che viene assunta da ogni funzione biologica.

II. — Del ritmo cardiaco e delle sue cause.

Il cuore di tutti gli animali, omotermi e pecilotermi, vertebrati e invertebrati, adulti e nel periodo embrionale, si contrae ritmicamente, sia che lo si osservi *in situ* nell'animale intatto, sia dopo averlo asportato, isolato dall'organismo; e in quest'ultimo caso, più o meno lungamente, secondo la sua so-

pravvivenza particolare. Il cuore deve dunque contenere in sè stesso i meccanismi che ne determinano la funzione ritmica: la connessione di esso con i centri nervosi non è necessaria. Su ciò tutti sono d'accordo.

Ma un'altra questione ora insorge; il moto ritmico del cuore è l'espressione di una proprietà particolare del tessuto muscolare cardiaco, o non è che l'effetto di impulsi motori aventi la loro origine negli aggruppamenti gangliari di cellule nervose situati nelle pareti stesse dell'organo? In altre parole, il ritmo cardiaco è miogeno o neurogeno?

Prima, però di tentar di risolvere tale questione, rendiamoci familiari coi fenomeni della ritmicità cardiaca. Sulla base dei fatti, sarà più agevole discutere la questione delle cause del ritmo cardiaco.

Sin dal tempo di Giovanni Müller e di Volkmann si ammise che i gangli intrinseci del cuore fossero la sorgente unica dell'attività cardiaca; così che la prima a comparire nella fisiologia fu la dottrina della natura neurogena dei moti del cuore. Rimase insoluta la questione, se dai gangli parta un impulso continuo, che poi venga trasformato in moto ritmico per opera delle fibre muscolari del cuore, o se il moto nasca nei gangli già dotato della proprietà ritmica. E a questa si riannodava l'altra questione, della uguaglianza o della ineguale dignità dei due gangli principali del cuore, e se uno potesse ritmicamente modificare l'azione continua dell'altro, ecc. È noto che Bidder disse il ganglio inferiore, da lui scoperto, essere di natura riflessa, il superiore (ganglio del seno o di Remak), di natura automatica. In seguito alle esperienze di Stannius e di altri, però, si ammise che il ganglio di Bidder avesse solamente una importanza subordinata nel provocare le contrazioni cardiache, ma non fosse di natura diversa da quella del ganglio di Remak, il ganglio motore per eccellenza.

Ma la dottrina dell'origine neurogena del ritmo cardiaco, pur troppo, non è basata sopra dati sperimentali, bensì sopra semplici considerazioni teoretiche ed anologie, che ci sono state tramandate dai primi cultori della fisiologia scientifica. Il fatto è che noi nemmeno oggi sappiamo alcun che di positivo, di

sicuro sulla funzione dei gangli intrinseci del cuore, e che nessun esperimento ne dimostra evidentemente l'importanza in ciò che si riferisce alle condizioni fondamentali della funzione motoria del cuore.

Ranvier e Vignal, basandosi sopra alcuni caratteri strutturali dei gangli cardiaci, Heidenhain e Nawrocki, dando un' interpretazione affatto differente degli effetti della settima legatura di Stannius, furono i primi ad iniziare l' opera di demolizione di quello schema dell' innervazione cardiaca, bello nella sua semplicità.

Sorsero poi a difendere or l' una or l' altra ipotesi della dottrina neurogena diversi osservatori; ma l' accordo non fu ancora raggiunto, non ostante la proposta conciliativa del Langendorff, di accordare a tutte le cellule dei gangli cardiaci, dovunque esse si trovino, una solidarietà nella capacità d' automatismo.

Ma già, come dissi, un' altra questione insorgeva: sono i gangli del cuore indispensabili alla sua attività?

Sembra che Maurizio Schiff sia stato il primo ad esprimere il sospetto che il cuore adulto possa funzionare indipendentemente dai suoi centri gangliari. Ecco come egli si esprimeva, sull' argomento generale dell' influenza dei centri nervosi sui movimenti ritmici, già nel 1850:

« Si è sostenuto, che ogni attività ritmica non possa esplicarsi se non mediante la cooperazione di un centro nervoso, e si è voluto localizzare specialmente nei gangli tali centri del moto ritmico. Ma non solamente in muscoli lisci, anche in muscoli striati si osservano, in date condizioni, dopo la distruzione dei loro organi centrali, dopo il taglio dei loro nervi, e anche dopo la loro asportazione dal corpo, dei movimenti regolari o irregolari, ritmici o periodici, precisamente come nel cuore.

« A questi movimenti appartengono non solamente quelli constatati da Remak, 36 e più ore dopo la morte, in piccoli pezzi di diaframma o nei muscoli branchiali dei pesci osservat al microscopio, ma anche quelli descritti da Valentin, cons stenti in forti contrazioni del diaframma alcun tempo dopo

il taglio dei suoi nervi; i moti intermittenti di zampe staccate dal corpo di insetti e di aracnidi, quali si possono specialmente osservare con evidenza nella Tipula e nel Phalangium. Nei corvi, cui io avevo distrutto il cervello e il midollo spinale e asportato i grossi muscoli del petto, io vidi in alcuni casi il *Musculus pectoralis minor* contrarsi ad intervalli regolari, fortemente e ritmicamente, e le pause fra le singole contrazioni rimanevano tanto eguali, che io, col contasecondi in mano, potevo benissimo predire il momento in cui sarebbe insorta la contrazione successiva. Questi movimenti perduravano, quando distaccavo il muscolo con le parti scheletriche annesse del resto del corpo. In un giovane gatto avevo distaccato le coste con i muscoli intercostali, e le avevo appese a un sostegno. Allora io osservai come, per contrazioni ritmiche dei muscoli, le singole coste ora si avvicinavano tra loro ed ora si allontanavano. E tutte queste parti, il cui moto ritmico non era abolito nè dal taglio dei nervi nè dalla loro separazione dal corpo, contenevano solamente *muscoli striati rossi* e *grosse fibre nervose mieliniche*, ma *non gangli.*

« Anzi la zampa di *Phalangium opilio* comincia i suoi movimenti in principio regolari, e la coda di *Lacerta agilis* i suoi movimenti ritmici irregolari, giusto nel momento in cui sono distaccate dai centri nervosi.

« Il cuore potrebbe forse trovarsi costantemente nelle medesime condizioni, in cui vengono a trovarsi i muscoli ricordati sopra per effetto dell' esperienza, e non è lecito per ciò affermare che il moto ritmico per sè stesso, o anche il ritmo regolare, debba necessariamente presupporre l' esistenza di centri nervosi di riflessione. »

Ma vediamo, innanzi tutto, quali fatti militino in favore della dottrina dell'origine miogena dei moti cardiaci.

1. La fisiologia comparata del cuore ce ne fornisce numerosi. Vi sono degli animali inferiori, p. e. i crostacei, i molluschi, ecc., nel cuore dei quali è stato impossibile rinvenire traccia di elementi nervosi gangliari. Tutta l'innervazione cardiaca di questi animali, il cui cuore pure pulsa con ritmo regolarissimo, si riduce all'esistenza, in alcuni di essi, di un

tronco nervoso, avente le proprietà di un nervo inibitore; vale a dire a un'innervazione parziale estrinseca, mentre manca ogni traccia d'innervazione gangliare intrinseca. Vero è che lungo questo tronco nervoso si osserva qua e là qualche piccolo ganglio, che rimane sulla superficie esterna dei vari segmenti cardiaci; ma fu agevole al Ransom estirpare tali gangli e constatare che la funzione cardiaca continuava inalterata per un tempo lunghissimo.

Basta, poi, dividere il cuore di questi animali, e anche dei pesci (Mc. William), in più segmenti, per vedere come non solo ciascun segmento continua a pulsare per conto proprio, per quanto piccolo esso sia, ma come anche ciascun segmento abbia un ritmo proprio, più o meno frequente e indipendente. Così che nella funzione del cuore *in toto*, bisogna ammettere che i ritmi propri dei segmenti meno automatici rimangano latenti, e che il ritmo più frequente e più forte del segmento più automatico governi il ritmo dei movimenti di tutto il cuore. Il segmento, in cui la ritmicità è al più alto grado sviluppata, è quello che comprende gli osti venosi del seno, in tutti gli animali. Ciò spiega la direzione costante dell'onda di contrazione del miocardio; ma vi sono dei tunicati, in cui tale direzione è periodicamente alternante; sì che bisogna ammettere che in questi animali non s'è ancora organizzata nella sostanza del miocardio quella particolare polarizzazione dell'organo che è la causa primitiva della costanza del punto d'origine dell'onda di contrazione.

Taluno ha voluto affermare che nel cuore di questi invertebrati esistono pure cellule gangliari (Dogiel); ma ormai è con sufficiente sicurezza dimostrato che le cellule credute gangliari sono cellule connettivali od endoteliali. Lo stesso Dogiel, infatti, le descrive come *apolari*, il che mi risparmia ogni discussione. Esistono dunque, senza alcun dubbio, cuori di animali inferiori, adulti, privi affatto di elementi nervosi, e pulsanti ritmicamente.

Oramai è abbastanza ricca la letteratura riguardante la fisiologia comparata del cuore, la quale costituisce un campo di ricerche assai fruttuoso. Principalmente notevoli sono le ricer-

che del Brandt, del Dogiel, del Plateau e del Knoll, sul cuore dei crostacei, di Bandler sul cuore delle Dafnie; quelle di Foster e Dew-Smith, di Fredericq, di Paul Bert, di Biedermann, di Schönlein, ecc., sul cuore dei molluschi; di Ransom, di Milly sul cuore di molti invertebrati in generale; di Mc. William sul cuore dei pesci e particolarmente dell'Anguilla; di Gaskell, Fano, ecc. sul cuore dei cheloni.

Da tutti questi numerosi e interessanti studi resulta ormai in modo evidente che il cuore, come organo centrale motorio, si è sviluppato assai precocemente da un determinato tratto dell' apparato circolatorio, ed ha assunto la sua funzione ritmica indipendentemente dalla funzione nervosa. Ma resulta anche costantemente che la prima innervazione che il cuore riceve, consiste in un'influenza inibitoria tonica di uno speciale tronco nervoso, originantesi dal sistema gangliare, che noi, per ciò, dobbiamo considerare come analogo al nervo vago degli animali superiori.

Ma anche nei vertebrati inferiori e superiori sembra ormai certo che la funzione ritmica del cuore si sia sviluppata e sussista allo stato adulto, indipendentemente dal sistema nervoso intrinseco di esso.

Già per il cuore della *Rana esc. e tempor.* Engelmann ha dimostrato che gli stimoli normali alla funzione motoria nascono automaticamente nelle grosse vene del cuore, mentre accurate indagini microscopiche lo hanno assicurato della mancanza di elementi nervosi gangliari nelle pareti dei vasi suddetti.

Anche nel cuore degli animali omotermi adulti le vene che sboccano negli atri sono la sede di origine degli stimoli fisiologici del cuore. Haller descrisse le pulsazioni delle vene cave, e notò che esse perdurano più a lungo di quelle degli atri, dopo la morte dell' animale. Egli cita a questo proposito osservazioni di numerosi altri autori, e tra gli altri di Stenson, di Lancisi, ecc. Anche Spallanzani e Giovanni Müller osservarono la straordinaria sapravvivenza dei moti ritmici delle cave e delle vene polmonali in molti animali, osservazioni di recente confermate ed ampliate da L. Brunton, Brown-Séquard, Krehl e Romberg e Mc. William.

2. Il cuore embrionale ci fornisce, in secondo luogo, preziosi dati di fatto in favore dell'origine miogena del ritmo cardiaco.

Già Haller aveva osservato che il cuore dell'embrione di pollo comincia a pulsare quando ancora nessun altro tessuto è eccitabile, e Bischoff aveva affermato che la causa ultima del movimento e del ritmo del cuore va cercata nel muscolo cardiaco stesso. In seguito Eckhard notò che il cuore embrionale comincia a pulsare, prima che i suoi elementi abbiano raggiunto la forma di vere cellule muscolari; e il Preyer rilevò il fatto che il cuore embrionale pulsa quando nessuna traccia di cellule e fibre nervose e di vere cellule muscolari ancora in esso si scorge.

Finalmente His jun. ha dimostrato che le cellule gangliari compariscono nel cuore relativamente tardi, e cioè al 6° giorno d'incubazione, nel pollo, il cui cuore comincia a pulsare già dopo 36 ore di incubazione, alla fine della 4ª settimana della vita intrauterina, nell'uomo, il cui cuore, secondo un'osservazione di Pflüger, già pulsa alla 3ª settimana di sviluppo. Egli ha inoltre trovato, che, come tutte le cellule dei gangli periferici, questi elementi nervosi sono d'origine centrale, vale a dire vi giungono per migrazione dai gangli spinali, lungo le vene (nei pesci e negli anfibi) o le arterie (negli uccelli e nei mammiferi), moltiplicandosi per via; ed ha affermato, sulla base di questi reperti embriologici, che le cellule gangliari del cuore sono di natura sensitiva. L'His inoltre ha potuto constatare che i primi rudimenti del sistema nervoso cardiaco compariscono negli embrioni di Scyllium quando questi raggiungono una lunghezza di 13 mm., mentre i cuori di embrioni di Scyllium lunghi 5 mm. già presentano evidenti ritmiche pulsazioni.

La funzione del cuore embrionale del 2°-3° giorno di sviluppo fu specialmente illustrata dal Fano, e interpretata, nel suo automatismo e nella sua ritmicità, come l'espressione di proprietà delle cellule miocardiche. Il Fano dimostrò, mediante la registrazione fotografica dei movimenti del cuore embrionale, che le pulsazioni del tubo cardiale primitivo in nulla di essenziale differiscono da quelle del cuore adulto; che già a quell'epoca è avvenuta la differenziazione funzionale dei vari seg-

menti, ancora anatomicamente appena distinti, e in tal modo da far riconoscere la corrispondenza funzionale di essi coi segmenti del cuore adulto; che, finalmente, anche la successione delle contrazioni cardiache si verifica in modo analogo a quella d'un cuore adulto. Recentemente io stesso ho potuto constatare che anche la forma di propagazione dell'onda di contrazione nel cuore del principio del 3° giorno di sviluppo ha luogo come nel cuore adulto, vale a dire non si tratta nel primo di una semplice onda peristaltica avente un'uniforme accelerazione, ma di un'onda che presenta in alcuni tratti un'accelerazione più o meno costante e in altri brevissimi un ritardo più o meno considerevole.

Ma qualcuno (Kaiser) s'è rifiutato di dare a queste osservazioni sul cuore embrionale delle prime ore dello sviluppo tutta l'importanza chè meritano, adducendo come ragione che il tubo cardiale del 2°-3° giorno di sviluppo, differisce tanto dal cuore d'un vertebrato adulto, quanto il cuore d'un crostaceo, e che non si può inferire dalla funzione di questo alla funzione dell'organo complesso d'un mammifero. Se non che, recentemente, io ho voluto continuare lo studio del cuore embrionale, scegliendo i cuori della seconda metà dello sviluppo, dall'11° giorno in poi, come oggetto di indagine fisiologica. E innanzi tutto ho potuto dimostrare che con nessuno dei mezzi che abbiamo a nostra disposizione si può mettere in evidenza la funzione degli apparati nervosi intrinseci o estrinseci del cuore. Nè i veleni considerati come tossici nervosi del cuore, nè la stimolazione del vago, infatti, hanno alcuna influenza sulla funzione motoria ritmica del cuore, durante tutta la sua vita embrionale.

Stabilito ciò, ho intrapreso una serie di ricerche sul cuore embrionale, le quali mi hanno condotto alle seguenti conclusioni generali:

a) che la funzione del cuore embrionale di pollo, della seconda metà del suo sviluppo, non differisce essenzialmente dalla funzione del cuore adulto degli altri vertebrati;

b) che nel cuore embrionale, come nel cuore adulto dei vertebrati inferiori, l'automatismo degrada dal seno verso i ventricoli;

c) che tutte le esperienze istituite sul cuore dei vertebrati adulti dànno i medesimi effetti se istituite sul cuore embrionale della seconda metà dello sviluppo.

a.

b.

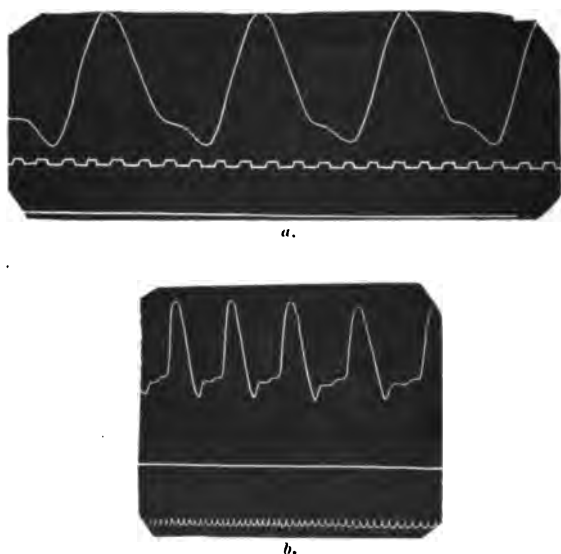



FIGURA 8. — a e b. Due tracciati di cuore embrionale (13° giorno di sviluppo). (Temp. 38°,5 C.).

Dinanzi a questi risultati, non si può più dubitare che il cuore possa funzionare indipendentemente dai suoi elementi nervosi, giacchè il cuore embrionale della seconda metà dello sviluppo morfologicamente, in nulla di essenziale differisce dal cuore adulto del medesimo animale o degli altri vertebrati.

3. Argomenti di non minore importanza, sempre in favore dell'origine miogena del ritmo cardiaco, ha fornito, da tempi remoti, anche lo studio del muscolo cardiaco adulto, e propriamente della così detta « punta del cuore. »

Eckhard, prima, e qualche tempo di poi Ranvier, Foster e Dew-Smith, Ludwig e Bowditch, ecc., con stimoli elettrici, Merunowicz ed altri, con stimoli chimici, Luciani, Ludwig e Luchsinger, con stimoli meccanici, riuscirono a provocare pulsazioni ritmiche in una « punta di cuore », vale a dire nell'estrema

punta ventricolare, separata dalle rimanenti parti del cuore; e sin da allora si cominciò da alcuni a proclamare la ritmicità come una proprietà speciale del miocardio.

Frattanto Bernstein dimostrava che la « punta del cuore », *fisiologicamente* separata dai segmenti superiori, ma in connessione anatomica con questi, e provvista dell'ordinario liquido nutritivo, rimaneva immobile, se non era esposta a stimolazioni artificiali. Essa è dunque priva di automatismo; e i movimenti ritmici furono da Bernstein attribuiti, nelle esperienze di Merunowicz, alla stimolazione chimica, esercitata dal liquido nutritivo, che risultava di sangue di mammiferi diluito con soluzione fisiologica di Na Cl. Per le esperienze successive di J. M. Ludwig e Luchsinger, Aubert, Gaule, Löwit, Stienon, Gaskell, Langendorff ed altri, tale questione fu risoluta nel senso che le contrazioni ritmiche anzidette sono provocate nella « punta di cuore », priva per sè stessa di automaticità, sia dalla stimolazione chimica esercitata dal liquido nutritivo artificiale, sia dalla pressione dal medesimo esercitata sulla superficie interna del preparato, la quale è specialmente accessibile agli stimoli esteriori. A questa soluzione devono sottostare anche i casi, che apparentemente fanno eccezione, come il ventricolo di testuggine nelle esperienze del Gaskell: qui, secondo Langendorff, stante la lunghezza del tempo latente, la corrente elettrica poteva benissimo produrre per elettrolisi, sostanze che agissero come stimoli chimici.

Possiamo dunque ritenere che la « punta di cuore », priva di elementi gangliari, non presenta movimenti automatici, ma risponde con contrazioni ritmiche a stimoli esterni, continui o interrotti, di qualsiasi natura; che essa è, in altre parole, dotata in alto grado di potere ritmico.

Ciò che abbiamo detto della punta di cuore, vale anche per il bulbo aortico del cuore di rana, il quale è anche privo di elementi gangliari, (non ostante le affermazioni contrarie di Löwit), e che, nelle esperienze istituite da Engelmann, rispondeva sempre ritmicamente, anzi con serie di contrazioni ritmiche, agli stimoli esteriori, continui o interrotti, unici o multipli.

Da ultimo Krehl e Romberg hanno trovato che i ventricoli

del cuore di mammiferi (coniglio), non solamente sono capaci di pulsare automaticamente, ma sono perfino capaci di una certa regolazione della loro funzione motoria, se sono esposti a differenti pressioni. Gli AA. non tennero, però, conto del fatto, che nel terzo superiore dei ventricoli di questi come di altri vertebrati, trovansi indubbiamente cellule nervose; così che le loro esperienze non sono bene al riparo da una critica severa. Lo stesso può dirsi per le esperienze di separazione fisiologica del segmento ventricolare dal segmento venoso del cuore, di Tigerstedt e di Woldridge. Ma noi non abbiamo bisogno di ricorrere ai mammiferi per convincerci che la vera « punta di cuore » è capace di contrazioni ritmiche.

Un esempio classico della proprietà ritmica del miocardio ce lo fornì il Bowditch, il quale osservò che la delfinina, mentre se fatta agire sopra un muscolo scheletrico lo fa rispondere con un tetano prolungato a uno stimolo momentaneo, fa invece rispondere la « punta di cuore » allo stesso stimolo con una serie di contrazioni ritmiche. Nell' uno e nell' altro tessuto l' aumento dell' eccitabilità, indotto dall' azione del veleno, si estrinseca nella forma più propria al tessuto stesso: nel primo, la forma tetanica, nel secondo, la forma ritmica.

Io vorrei qui toccare più da vicino la questione se la punta di cuore va ritenuta come priva, in condizioni normali, di potere automatico, nei vertebrati superiori, e se lo stesso si può dire per il segmento ventricolare del cuore di animali pecilotermi. Si sa che, in seguito all' esperienza fondamentale di Stannius, i ventricoli, dopo un certo tempo, ricominciano a pulsare; e inoltre Gaskell, Wooldridge, Tigerstedt, ecc., osservarono anche nei rettili e nei mammiferi persistenti pulsazioni dei ventricoli dopo la legatura o lo schiacciamento della base ventricolare. Potrei qui citare ancora le numerose osservazioni sulle pulsazioni della punta di cuore isolata fatte nei pesci da Mc. William e da Mills, nel Menobranchus dallo stesso Mills, nei rettili da Gaskell e da Mills, negli uccelli da v. Wittich.

Che il trauma sia la causa delle pulsazioni è inverisimile, perchè, come notò lo stesso Gaskell, esse compariscono un tempo più o meno lungo dopo l' operazione, e quasi sempre

sono lente in principio e più frequenti in seguito. Ma un fatto che merita d'essere sopratutto notato è che la frequenza delle contrazioni ritmiche di questo segmento più distale del cuore non raggiunge mai quella del cuore normale. Le contrazioni provocate da un trauma sono immediate, sono più frequenti in principio, e poi si spengono man mano. Qui invece, almeno nella massima parte dei casi, le contrazioni sono durevoli purchè si irrighi il cuore, e se sono date certe condizioni indispensabili di temperatura e di pressione.

Debbono queste condizioni — irrigazione con liquidi nutritivi, temperatura, pressione — esser considerati come stimolazioni continue del miocardio? A tale questione abbiamo già accennato altrove; ma essa è tale che non si può risolvere per mezzo di semplici considerazioni teoretiche. Si può avere il diritto di affermare che queste condizioni — e anche la corrente propria di demarcazione, che dura poco, e al più potrebbe spiegare le prime contrazioni che seguono al trauma — non sono veri stimoli, quando il liquido nutritivo non contiene sostanze eterogenee o stimolanti, quando la temperatura è quella cui l'animale è adattato in vita, e la pressione fatta nell'interno del segmento di cuore non superi la normale pressione intracardiaca.

Ma d'altra parte non va dimenticato che qui si tratta di un segmento di organo distaccato dal corpo, in cui, in via generale, i processi catabolici prevalgono sui processi anabolici, anche se l'organo è irrigato da un liquido nutritivo; d'un segmento di organo, cioè, in cui è aumentata l'irritabilità e l'attitudine a mettere in libertà delle energie, mentre i freni inibitori neurogeni, l'anabolismo, quasi non esistono più o solo in traccie. Per questa ragione, stimoli insignificanti, che noi non sapremmo apprezzare, potrebbero esser sufficienti a destare in esso movimenti ritmici, che a noi sembrano automatici. L'ipotesi di Mc. William, che i movimenti ritmici della punta di cuore, anche nei vertebrati, non siano che l'espressione di quel potere automatico, rimasto latente durante la vita solo perchè in condizioni fisiologiche il potere automatico degli osti venosi domina e governa la funzione cardiaca, mentre nel seg-

mento isolato, ha la possibilità di estrinsecarsi, è basata sul fatto che i diversi segmenti cardiaci, quando pulsano separatamente, presentano un ritmo differente proprio a ciascuno di loro. Ma lo stesso fatto può esser capace di altra interpretazione. Può darsi benissimo che esso sia l'espressione non di un potere automatico proprio a ciascun segmento, ma del potere ritmico, vale a dire della proprietà, più diffusa dell'automatismo negli organi muscolari, di rispondere con serie di contrazioni ritmiche a stimoli esteriori o interiori della più svariata natura. Nulla c'impedisce d'ammettere che questo potere ritmico sia differente nei vari segmenti del cuore, e propriamente abbia il massimo di frequenza negli osti venosi e il minimo di frequenza nel muscolo ventricolare. E allora, date le condizioni di maggior irritabilità della punta di cuore, essa risponde a stimoli ritenuti come insignificanti — quali la lieve pressione della leva scrivente o del liquido che riempie il segmento cardiaco, la composizione non mai affatto fisiologica del liquido così detto nutritivo, i prodotti del processo di disintegrazione, di degenerazione del muscolo che si avvicina alla sua morte, ecc., — con contrazioni ritmiche in serie, come risponde a uno stimolo continuo di corrente costante, chimico, meccanico, ecc. A me ripugna molto più l'ammettere uno stato di latenza di un potere automatico, che, diciamo così, la mancanza di estrinsecazione della capacità ritmica propria sotto l'influenza dello stimolo fisiologico più frequente proveniente dal segmento veramente automatico.

Resterebbe il fatto che le contrazioni insorgono qualche tempo dopo l'isolamento della punta di cuore. Ma se si ammette, come mi pare si debba, che la « punta di cuore » è un muscolo che si trovi in stato di prevalente catabolismo, ne segue logicamente, che questo stato non possa estrinsecarsi istantaneamente, come nell'ipotesi di Mc. William il potere automatico proprio. Subito dopo l'asportazione, il segmento ventricolare rimane immobile perchè non ancora si è stabilito quello stato di disquilibrio fra anabolismo e catabolismo, con prevalenza di quest'ultimo, che è, secondo me, la causa vera dell'aumento dell'irritabilità nell'organo e della comparsa delle contrazioni ritmiche ; in esso

permane per un certo tempo, più o meno lungo, a seconda degli animali, lo stato d'equilibrio fra i due processi metabolici, cui corrisponde la quiete; come quest' equilibrio si rompe, il muscolo risponde a stimoli debolissimi, che a noi sembrano trascurabili, alla stessa guisa come risponderebbe allo stimolo fisiologico normale.

L'argomento che si potrebbe tirare in giuoco, cioè della minima quantità di sostanza nutritiva che sarebbe bastante alla funzione del miocardio, nel caso nostro non ha nessun valore; poichè si può mettere quanta sieralbumina si voglia a disposizione del cuore; se questo non trovasi più sotto l'influenza del vago, che normalmente governa i processi anabolici del cuore, questo non può nutrirsi che insufficientemente. Mi sembra dunque che non si possa dubitare che in una punta di cuore i processi anabolici si vengano rapidamente estinguendo, non ostante l'irrigazione; che in essa si svolgono prevalentemente processi catabolici; per cui il muscolo trovasi in condizioni di maggiore irritabilità, vale a dire è più atto a risentire stimoli debolissimi. In tali condizioni, ripeto, mi sembra più verosimile considerare sempre i movimenti ritmici della punta di cuore come movimenti responsivi, anzi che come movimenti dovuti a un potere automatico latente, che non ebbe mai, durante tutta la vita dell'animale, l'occasione di estrinsecarsi.

Altri fatti, riguardanti la fisiologia del cuore adulto, sono stati da alcuni considerati come provanti l'indipendenza della funzione motoria del miocardio, mentre da altri sono stati o oppugnati, o considerati, per contro, come provanti il predominio della funzione nervosa sul miocardio, in qualsiasi estrinsecazione dell'attività cardiaca.

Io passerò questi fatti rapidamente in rassegna, ed accennerò di volo alle controversie cui hanno dato origine.

1. Prima nessuno dubitava che la trasmissione dell'onda d'eccitazione a traverso il cuore, dal segmento in cui s'inizia fin dove termina il moto di ciascuna rivoluzione cardiaca, si facesse per i nervi del cuore; specialmente dopo che Donders ebbe affermato che una completa interruzione della parete muscolare esiste in corrispondenza del solco atrioventricolare.

Ma ricerche posteriori hanno dimostrato che questa interruzione anatomica del miocardio non esiste, avendo His jun. scoperto nel cuore dei vertebrati superiori e dell'uomo un fascio muscolare, che riunisce gli atri coi ventricoli, il quale parte dalla parete posteriore dell'atrio destro, vicino al setto interatriale, e s'inserisce al canto superiore del setto interventricolare, dirigendosi poi, vicino all'aorta, in avanti e dividendosi in due rami uno destro e l'altro sinistro, il quale ultimo termina nella base del velo aortico della mitrale.

Del resto, anche prima di His, il Paladino aveva dimostrato che nell'uomo e in diversi altri vertebrati fasci muscolari passano dagli atri ai ventricoli. Lo stesso fatto osservò Gaskell nella rana e nella tartaruga, e nuova conferma di queste osservazioni è stata data di recente da A. F. Stanley Kent, per altri vertebrati. Engelmann ha poi aggiunto che, oltre ai fasci muscolari che vanno dagli atri al ventricolo, nel cuore di rana esiste un ponte muscolare discretamente grande che congiunge il ventricolo col bulbo aortico, e un altro che congiunge il seno cogli atri.

Non sarebbe, dunque, impossibile, almeno per quanto riguarda la continuità anatomica della parete muscolare, che la conduzione dell'eccitazione si facesse per quest'ultima, come per primo pensò il Fick.

Ma esistono anche altre osservazioni in favore della conduzione puramente muscolare.

Le esperienze di Wooldridge, e quelle di Gaskell sugli effetti della sezione dei *nervi coronari* del cuore della tartaruga, dimostrano che i tronchi nervosi macroscopici del cuore non sono indispensabili al normale suo funzionamento. Finalmente Engelmann ha recentemente trovato che, almeno per ciò che riguarda la muscolatura atriale, è molto improbabile una conduzione nervosa, perchè misurando la velocità di trasmissione dell'onda di eccitazione a traverso la parete atriale, col metodo di Helmholtz, ha trovato valori bassissimi (90 mm. per 1''), circa trecento volte minori di quelli che si trovano per la velocità di trasmissione nei nervi della rana stessa. Io stesso ho ripetuto nell'atrio di *Bufo vulgaris* le esperienze di Engelmann,

con identici risultati; e anche negli atri dell'embrione di pollo ho trovato una velocità di trasmissione assai bassa (circa 120 mm. per 1'').

Riteniamo, dunque, per ora, che la conduzione del processo d'eccitazione, nel cuore, come nell'uretere (Engelmann) e nel tessuto muscolare liscio dell'esofago (Bottazzi) si fa da cellula a cellula muscolare, per il tramite dei ponticini che congiungono le cellule miocardiche come le cellule muscolari liscie (de Bruyne, Kultschitzky, Busachi, Barfurth, Bohemann), e molto probabilmente a traverso il sarcoplasma (Bottazzi). E riteniamo quest'ipotesi tanto più volentieri, in quanto che esempi di simile trasmissione puramente muscolare abbondano nella fisiologia comparata. Essa ha luogo, molto probabilmente, nella tonaca muscolare dell'intestino degli insetti, dei miriapodi e di alcuni pesci (*Cobitis*, Engelmann), e nel tessuto contrattile di alcune meduse (*Aurelia*, Romanes); nel cuore di quei tunicati, in cui la direzione dell'onda di contrazione varia periodicamente, e nel cuore dei selacei, in cui Gaskell riuscì ad ottenere che le contrazioni si seguissero alternativamente dal seno al ventricolo e viceversa. Del resto un'inversione simile della direzione dell'onda di contrazione era stata osservata molto tempo prima (Ludwig, Bidder, Eckhard, Schiff, ecc.), ed è, dice Engelmann, uno dei fatti più facilmente dimostrabili della fisiologia del cuore. Ora per spiegare questo fatto con l'intervento di elementi nervosi nella conduzione dell'eccitazione, bisognerebbe attribuire all'apparato nervoso di riflessione del cuore un potere conduttore in doppio senso, — ciò che sinora non è stato sicuramente dimostrato.

2. Se, dal principio della fase diastolica d'una contrazione ventricolare in poi, si fa cadere uno stimolo di corrente indotta sul ventricolo, questo risponde con una contrazione anticipata — detta *estracontrazione* o *estrasistole*, — alla quale succede un periodo di riposo più lungo di quello che ordinariamente intercede fra una sistole e l'altra, il quale fu detto *riposo compensatore* (Marey). L'esistenza di un *riposo compensatore* in seguito ad un'estrasistole, dagli osservatori che seguirono al Marey nello studio di questo importante fenomeno, fu attri-

buita agli apparati nervosi del cuore (Dastre, Marcacci, Gley, ecc.). Secondo questi una punta di cuore, stimolata artificialmente a pulsare ritmicamente, può presentare un' estracontrazione, ma non un *riposo compensatore*, quale si presenta nel cuore intiero, provvisto dei suoi nervi e gangli intrinseci (Kaiser).

Ora l' Engelmann ha dimostrato che il *riposo compensatore* esiste anche nella punta di cuore, priva di elementi nervosi, e che il non aver osservato questo fatto dipendeva dall'aver adoperato, come stimolo, una corrente tetanizzante, in luogo di stimoli unici succedentisi ritmicamente. Io stesso ho osservato il fenomeno in questione, nella sua forma classica, anche nel cuore dell' embrione di pollo, ciò che toglie ogni dubbio che il fenomeno sia affatto indipendente dagli elementi nervosi.

Un altro fenomeno sembra in vece essere in dipendenza dei nervi cardiaci, e propriamente dei rami intracardiaci del vago; voglio dire la maggior ampiezza della sistole che io chiamai « postcompensatoria », la quale si verifica, nel cuore di animali adulti solo in seguito a stimolazione del seno o degli atri, mentre nel cuore embrionale si verifica costantemente, qualunque sia il segmento stimolato (Bottazzi). Il fenomeno è stato osservato dal Langendorff nella rana, dal Gley e dal Langerdoff stesso nei mammiferi, e da me ultimamente nel cuore di *Bufo* e nel cuore embrionale.

3. Un fatto della più alta importanza è la particolare struttura del segmento cardiaco, donde, per consenso universale, in condizioni normali, nasce l' onda di contrazione per ciascuna rivoluzione cardiaca. Questo segmento è composto del seno venoso, vale a dire della porzione terminale dei grossi tronchi venosi del cuore e del loro sbocco negli atri. Ora il Gaskell trovò che in questo segmento, nel punto di congiunzione del seno con gli atri, non che nella parete interatriale e nel punto di congiunzione fra atri e ventricoli, esistono dei fasci circolari di fibre miocardiche simili a quelle del tubo cardiale primitivo, e per struttura e per ordinamento. Queste parti meno differenziate sarebbero, secondo il medesimo Autore, la sede di un più alto grado di potere ritmico.

Questa scoperta istologica ci fa intendere più dati di fisiologia sperimentale.

Essa collima col principio generale stabilito dall'Engelmann in seguito alle sue numerose ricerche, che cioè stimoli automatici e isoritmici con le contrazioni dell' intero cuore, generantisi nel segmento più automatico e ritmico (il seno venoso), sono la causa unica delle pulsazioni cardiache; che, in altre parole, lo stimolo per le pulsazioni cardiache, non è continuo, primitivamente, per esser poi trasformato dal miocardio in movimento ritmico, ma *nasce originariamente ritmico* nel segmento meno differenziato del cuore, in quello cioè che più ha ritenuto della proprietà embrionale automatica e ritmica.

Da molti è stato osservato, inoltre, che, eccitando il cuore in corrispondenza del limite seno-atriale e atrio-ventricolare, non solo si può ottenere un'estra-contrazione con correnti d'un'intensità, che non la provocherebbero eccitando il cuore fuori di quei punti, ma che si ottengono delle serie di contrazioni, succedentisi con un ritmo più accelerato dell'ordinario.

Ancora, fu osservato che il periodo d'eccitazione latente d'un'estrasistole è maggiore quando si stimolano i punti dianzi ricordati.

A spiegare l'uno e l'altro fatto fu invocata la presenza degli elementi nervosi gangliari in quei distretti. Si disse: sono le cellule gangliari che provocano, stimolate, serie di contrazioni ritmiche, in luogo di contrazioni uniche, e con correnti più deboli. Si disse: sono le cellule nervose che ritardano la trasmissione dello stimolo elettrico ed allungano il tempo latente.

Ma, dopo la scoperta di Gaskell, non abbiamo noi ugual diritto di credere che i due fenomeni si possano spiegare col potere ritmico più sviluppato in quegli elementi muscolari serbanti carattere embrionale e con la proprietà dei medesimi di rispondere meno rapidamente agli stimoli esteriori?

Le obiezioni, diremo così, d'indole estrasperimentale alla dottrina della natura miogena del ritmo cardiaco sono, in breve, le seguenti.

Per ciò che riguarda il cuore degli animali inferiori e dell'embrione di pollo dei primissimi giorni di sviluppo, si dice che essi sono talmente differenti dal cuore adulto d'un mammifero, che non è possibile generalizzare i resultati ottenuti dallo studio di quelli a spiegare la funzione di questo. Inoltre Eckhard stesso notò per il primo, che se il cuore embrionale non possiede cellule nervose, non si può dire che sia fatto nemmeno di vere cellule miocardiche.

In quel periodo dello sviluppo, noi abbiamo davanti un organo costituito di cellule embrionali, in cui appena cominciano a scorgersi le traccie d'una differenziazione istologica. Per altro His sen. disse, che non esisteva alcun fondamento per mettere in dubbio che anche nei primissimi giorni il cuore contenga cellule nervose. Ma, a parte le osservazioni positive di His jun. sull'epoca in cui compariscono le prime cellule gangliari nel cuore, si può forse ammettere che col primo comparire degli elementi nervosi coincida la loro capacità funzionale? (Ramon y Cajal).

Alle esperienze di sezioni fatte sul cuore embrionale dal Fano e dal His il Kaiser in special modo obietta che il taglio del cuore è un insulto meccanico troppo grave, per poter avere il diritto di generalizzarne i resultati al cuore adulto normale. Egli si basa sopra esperimenti del Langendorff e suoi, dai quali risulta che il ventricolo d'un cuore di rana separato dall'organismo presenta un'eccitabilità assai maggiore, p. e. a stimoli chimici (applicazione d'un cristallino di Na Cl), mentre il cuore *in situ* non risponde con contrazioni abnormi nemmeno se lo si cosperge tutto quanto di sal di cucina in sostanza. Lo stesso fatto risulta, invero, dalle mie ricerche sull'azione dei sali di potassio sul cuore: il cuore *in situ* non è arrestato da quantità considerevoli di soluzione di quei sali, mentre con piccole quantità si ottiene l'arresto di un cuore separato dall'organismo. Ciò dimostra, senza dubbio, che il comportamento del cuore nelle due condizioni è sostanzialmente differente. Ma questa obiezione potrebbe esser rivolta alla massima parte delle esperienze fisiologiche; essa non ha un valore speciale nel nostro caso.

Il Langendorff stesso osservò che un muscolo cardiaco che si trovi in azione miogena (una punta di cuore) si comporta differentemente, verso stimoli intercorrenti, di un cuore pulsante *sotto l' influenza dei suoi centri nervosi* (cuore intero). Se, infatti, il muscolo cardiaco privo di gangli (punta di cuore), con uno dei mezzi usuali, viene stimolato a pulsare ritmicamente, queste pulsazioni possono venire alterate per mezzo di stimoli intercorrenti (chimici), mentre il ventricolo d' un cuore intero e normale non ne viene modificato. Se consideriamo — aggiunge il Langendorff — questa inalterabilità del ritmo cardiaco per mezzo di stimoli locali applicati sul tessuto miocardico, accanto al fatto che stimoli i quali colpiscono le cellule gangliari del cuore, possono alterarne considerevolmente il ritmo, si viene alla conclusione, che le pulsazioni del cuore, in condizioni ordinarie, non sono determinate da eccitazioni proprie del miocardio, ma solo dall' attività dei suoi apparati nervosi centrali.

Il fatto è, però, che quando si porta uno stimolo sopra le località in cui trovansi situati i gangli del cuore, si stimola anche quelle regioni, in cui, come vedemmo, la parete del cuore presenta caratteri strutturali embrionali, e abbiamo già detto che le dette regioni presentano al più alto grado il potere ritmico. L' osservazione del Langendorff può essere, per ciò, con ugual diritto utilizzata a proprio favore dai sostenitori della dottrina miogena.

Uno dei più tenaci sostenitori della dottrina neurogena del ritmo cardiaco è il Kaiser, che in questi ultimi anni ha pubblicato una serie di lavori su questo argomento, che noi tenteremo di riassumere brevemente.

La ritmicità del moto del cuore — dice il Kaiser — è non solamente il momento essenziale per la circolazione del sangue, ma, nello stesso tempo, anche la condizione necessaria perchè l' attività del cuore si mantenga, senza interruzione; perchè, infatti, noi sappiamo, dalle esperienze di Mosso, che un muscolo è in grado di lavorare senza interruzione, quando la forza o grandezza di ciascuna contrazione sta alla frequenza delle sue contrazioni nell' unità di tempo in un rapporto determinato.

Per il cuore, questo principio è stato recentemente formulato dal Langendorff come *legge della costanza del lavoro del cuore*, sulla base delle ricerche del Marey e del suo principio *della periodica refrattarietà del cuore*, delle ricerche dell' Engelmann e della sua — legge della *conservazione del periodo fisiologico di eccitabilità*, nonchè sulle sue proprie indagini sul cuore dei mammiferi.

Ma il Kaiser ha voluto indagare se esiste un rapporto costante e determinato fra sistole e diastole, quanto a intensità, durata, ecc. Egli si pose la questione, se la ritmicità del moto cardiaco è basata, per avventura, sul fatto che l' una delle due fasi dell' attività cardiaca serva di stimolo a provocar l' altra e viceversa. Se la sistole e la diastole sono in reciproco rapporto di causalità, rinforzando, p. e., la sistole, e per ciò anche lo stimolo che da essa deriva, dovrebbe ottenersi anche un rinforzo della diastole.

In via generale, è principio fondamentale della fisiologia del cuore che, se esso non funziona più frequentemente della norma, le sue contrazioni sono sempre massimali; riducendo al *minimum* fisiologico ordinario la frequenza dei battiti cardiaci, questi non possono in nessun modo essere rinforzati, essendo massimali.

Un rinforzo si può ottenere, diminuendo, p. e., col raffreddamento, l' abnorme frequenza dei battiti, in omaggio al principio della costanza del lavoro del cuore; ma mai oltre il limite *maximum* fisiologico. Così che la stessa presupposizione del Kaiser è, per lo meno, infondata. Assolutamente ingenua è poi la sua credenza, che l' estracontrazione (nel fenomeno di Marey) possa, in alcun caso, considerarsi come un rinforzo di sistole; egli crede, in conseguenza di questa premessa, di trovare nel riposo compensatore quel rinforzo della diastole (« Verstärkung der folgenden Diastole »), che, secondo lui, deve succedere al rinforzo delle sistole. Credo inutile discutere queste affermazioni del Kaiser, perchè egli dimostra di non aver compreso l' intimo meccanismo del fenomeno di Marey.

Secondo il Kaiser, il riposo compensatore non può esser dovuto a stanchezza degli apparati nervosi, come avevano

pensato Langendorff e Dastre, nè a stanchezza del muscolo, perchè esso non si verifica nella « punta di cuore » (affermazione, come abbiamo veduto, oramai insostenibile); ma è dovuto, secondo lui, allo stimolo che l' estrasistole esercita sul cuore, provocando un rinforzo della diastole e risp. della pausa successiva. Il ritmo del cuore sarebbe — secondo il Kaiser — un giuoco di azioni motorie e inibitorie: la sistole eccita delle fibre nervose sensitive, che trasmettono l' eccitazione a un centro inibitorio locale, il quale produrrebbe la diastole; cessato, con la diastole, lo stimolo eccitante il centro inibitore, il centro motore produrrebbe una nuova sistole, e così via; il vago non farebbe che aumentare l' azione inibitoria del centro locale, la cui funzione si estrinseca in ogni diastole normale; il centro motore si troverebbe in uno stato di eccitazione tonica continua. Io ho cercato — egli dice — di riportare la ritmicità dell' attività cardiaca all' interferenza di due stimoli, di cui l' uno è di natura automatica (originantesi nel centro motore), mentre l' altro è dato in via riflessa dalla contrazione dello stesso ventricolo.

In sostanza egli, però, non ha fatto altro che pretendere di rimettere a nuovo l' ipotesi di Bidder sul centro dei riflessi cardiaci, situato nel ventricolo (mentre il centro dei movimenti ritmici automatici sarebbe negli atri).

Le altre memorie del Kaiser sono prevalentemente polemiche e critiche.

Egli si propone di dimostrare da prima, che le pulsazioni ritmiche provocate artificialmente in una « punta di cuore, » non sono analoghe ai normali movimenti del cuore.

In primo luogo, la causa della ritmicità del moto d' una « punta di cuore » non sta nella stanchezza del muscolo cagionata dalla contrazione massimale, come hanno dimostrato Dastre e lui stesso; perchè nella punta pulsante ritmicamente uno stimolo intercorrente produce anche un' estracontrazione, però senza prolungamento della pausa successiva. Quest' ultimo fatto dimostrerebbe, secondo Dastre e Kaiser, che il verificarsi del « riposo compensatore » è intimamente legato alla presenza dei gangli, e per conseguenza anche la regolazione del ritmo

cardiaco. Ma abbiamo visto come tutte queste osservazioni e considerazioni siano inesatte.

Secondariamente, la causa della ritmicità non risiede, secondo il medesimo autore, nel « periodo refrattario » (Marey, Kronecker, L. Brunton e Cash, Gley, Laulanié, ecc.); perchè, facendo cadere lo stimolo intercorrente minimo nel primo tempuscolo del periodo eccitabile, si può sopprimere quasi completamente la parte discendente (diastolica) del cardiogramma, e ottenere così un tracciato che può essere considerato come espressione di un tetano incompleto del ventricolo.

In terzo luogo, la ritmicità potrebbe esser causata da ciò, che lo stimolo stesso, per le modificazioni che provoca nel cuore, subisce un'interruzione. Per ciò che riguarda il cuore intero, il Kaiser ha mostrato che ciò è possibile; egli ha inoltre provato che lo stesso si verifica nella « punta di cuore », ma per un meccanismo affatto diverso, vale a dire non per processi aventi luogo nell'interno del cuore, ma per condizioni affatto esteriori e artificiali, che non hanno nulla da fare con la causa della ritmicità del cuore, e propriamente per lievi oscillazioni dell'intensità della corrente elettrica, causate dalla contrazione e dal rilasciamento del muscolo stesso, per le quali, il muscolo cardiaco attraversato dalla corrente costante, è specialmente sensibile. Egli aggiunge che anche le pulsazioni provocate da stimoli continui chimici o meccanici non son dovute a una speciale proprietà ritmica del miocardio, ma che lo stimolo continuo si trasforma in ritmico, per il fatto della sua stessa azione.

Inoltre, il Kaiser si pone la seguente questione: se si elimina il centro inibitorio, che è la causa vera della ritmicità, il ventricolo rimane in uno stato di contrazione sistolica permanente?

Egli osservò che, separando certe parti del ventricolo vicine al solco atrio-ventricolare, certe altre parti del ventricolo entrano in uno stato di forte contrazione permanente. Ma non potè stabilire i rapporti topografici tra le parti separate e quelle contratte, donde concluse che le cellule del centro inibitore riflesso non sono aggruppate insieme in un punto determinato,

ma sono distribuite in modo non precisabile sul ventricolo. Vista, però, l'impossibilità di eliminare in tal modo completamente il centro inibitorio, egli si rivolse ai veleni, e trovò che l'elleboreina annulla l'azione di questo centro, sì che il cuore di rana si arresta in contrazione sistolica. Che l'elleboreina non eserciti alcuna azione sulla sostanza muscolare, egli lo deduce dal fatto della sua relativa inattività sugli altri muscoli (scheletrici), ma specialmente dal fatto che una « punta di cuore », su cui ha agito questo veleno, rimane nel suo stato diastolico abituale, mentre piccole quantità di veratrina o di fisostigmina vi provocano subito pulsazioni ritmiche spontanee. L'esistenza di questo centro inibitorio riflesso, che sarebbe situato nel solco atrio-ventricolare e nel terzo superiore della parete ventricolare, ha cercato ancora il Kaiser di dimostrare con esperimenti, in cui, stimolando il vago, ha ottenuto un indebolimento o una cessazione dello stato sistolico provocato dall'elleboreina. Il vago agirebbe dunque, eccitando il centro inibitorio supposto dal Kaiser.

Rievocando, poi, alcune vecchie esperienze del Pagliani, prima da nessun altro confermate, egli ha trovato che, stimolando il ventricolo, si ottiene prima una contrazione degli atri e solo in seguito una contrazione anche poi del ventricolo; fatto che egli spiega, a guisa di un riflesso, con l'esistenza delle fibre nervose (afferenti ?) dimostrate dall'Heymans nella « punta di cuore » di rana. Il fenomeno opposto, della contrazione antiperistaltica del cuore interviene però molto frequentemente (Mc. William, Gaskell, Engelmann, ecc.); e non bisogna dimenticare che se durante l'eccitazione vi ha una diffusione dello stimolo ai segmenti dotati di maggior potere ritmico, è naturale che da questi insorga l'onda di contrazione.

Il Kaiser, sulla base di esperienze poco convincenti, afferma che il metodo usato dall'Engelmann per dimostrare la trasmissione muscolare dell'onda d'eccitazione è erroneo; onde rigetta tale possibilità.

Egli nega, poi, che la ritmicità del cuore sia determinata da stimoli ritmici partenti dal seno venoso, vale a dire dal segmento cardiaco più automatico e ritmico: il principio fon-

damentale, a dimostrare il quale l'Engelmann ha fatto convergere una quantità di ricerche svariate, e più particolarmente uno studio profondo del fenomeno del Marey.

Nell'ultima sua memoria, il Kaiser finalmente stabilisce le seguenti proposizioni, come risultanti più dalle sue supposizioni sull'origine del ritmo cardiaco che dalle sue esperienze.

1. Il riposo compensatore dev'esser tanto più lungo, quanto più presto dopo la fine della sistole ventricolare viene provocata l'estra-contrazione.

2. Il riposo compensatore deve aumentare col numero delle estra-contrazioni intercalate.

Tale affermazione è stata pienamente contradetta e dimostrata falsa dall'Engelmann, il quale è venuto a un resultato affatto opposto. Anche se si fa compiere al cuore — dice l'Engelmann — non una sola, ma una lunga serie di estra-sistoli, l'effetto è il medesimo, vale a dire la pausa seguente all'ultima estra-sistole non è più lunga di quella che succederebbe a una sola estra-sistole.

3. Il riposo compensatore è tanto più lungo, quanto più rapidamente si seguono due estra-contrazioni intercalate. (?)

4. Anche il ventricolo pulsante ritmicamente per stimoli continui deve presentare il riposo compensatore dopo un'estra-contrazione

Quest'ultima affermazione non solo è in contradizione con quanto l'A. aveva detto antecedentemente, ma è stata dimostrata falsa dall'Engelmann.

Io credo inutile continuare a citare supposizioni e osservazioni poco sperimentalmente fondate del Kaiser. Basterà quello che ho citato per mostrare l'insufficienza delle affermazioni del poco solido sostenitore della dottrina neurogena del ritmo cardiaco.

Una sola merita ancora d'essere ricordata. Il Kaiser non crede si possa dare alcun valore all'osservazione di His jun. che le cellule gangliari del cuore derivano, allo stato embrionale, come le altre cellule dei gangli simpatici e periferici, dai gangli spinali, e che per ciò debbano esser considerate come cellule sensitive. L'unica obiezione che si possa fare all'opi-

nione di His, può esser basata sulla comune antica credenza che i gangli viscerali rappresentino dei centri motori periferici per la muscolatura dei diversi visceri. Ora sta di fatto che nessuno ha sinora dimostrato in modo irrefutabile tale funzione motoria dei gangli simpatici periferici; e però un' obiezione fondata sopra una credenza che nulla ha dimostrato vera non ha, essa veramente, alcun valore.

In favore dell' opinione di His sta l' osservazione diretta embriologica, ed il fatto che da qualche anno a questa parte si va diffondendo tra i fisiologi la convinzione che la funzione motoria di un certo numero di organi muscolari viscerali è di natura miogena. Che cosa si può invocare fino ad oggi in appoggio della dottrina contraria?

Dissi che non esistono serie esperienze positive, le quali dimostrino la dipendenza del ritmo cardiaco dagli apparati nervosi intrinseci. L' azione dei veleni del cuore ha cessato di essere quella dottrina schematica conosciuta dai più, e nuove idee sorgono per ogni dove in questo come negli altri rami della cardiofisiologia. Noi non possiamo soffermarci sopra di essa, anche perchè nessun concetto chiaro ne potremmo ricavare riguardo alle cause del ritmo cardiaco.

Più progredito è lo stato delle nostre conoscenze sulla funzione dei nervi estrinseci del cuore. Essa può essere riassunta nelle seguenti proposizioni, magistralmente stabilite dal Gaskell:

1. Il tessuto muscolare del cuore è animato da due serie di nervi di carattere opposto: gli uni vi producono dei processi metabolici distruttivi, d'indole chimico-nutritiva (i nervi così detti motori, d' origine simpatica); gli altri vi producono dei processi metabolici riparatori (il vago).

2. Gli effetti dell'azione del nervo che genera un lavoro metabolico riparatore, nervo che può essere chiamato *anabolico*, sono quelli dell' inibizione, ciò è a dire una depressione della funzione seguìta da riparazione.

3. Gli effetti dell'azione dei nervi che producono un metabolismo distruttore — nervi ai quali si può dare il nome di *catabolici* — sono quelli d'un nervo motore, vale a dire che consistono in aumento della funzione, seguìto da esaurimento.

Il cuore contiene in tutte le sue parti, sino alla punta ventricolare, numerosi filamenti nervosi, e si può dire che molto probabilmente non v'è cellula miocardica che non sia in relazione istologica con una terminazione nervosa.

Fra questi nervi vi sono alcuni che, come hanno mostrato le ricerche di Muskens, per via riflessa, e mediante i grossi centri nervosi e il vago, agiscono sulle diverse parti del cuore in modo assai differente.

Le azioni centrifugali — secondo Engelmann — possono consistere:

1. in modificazioni positive o negative dei fenomeni motori, che possono raggrupparsi sotto la denominazione generica di — *influenze funzionali* — e propriamente:

a) in modificazioni primarie dell'automatismo: *effetti cronotropi;*

b) in modificazioni del potere di conduzione dell'onda d'eccitazione e di contrazione: *effetti dromotropi;*

c) in modificazioni dell'energia e ampiezza delle contrazioni del miocardio: *effetti inotropi*;

2. in modificazioni dei processi trofici che si svolgono nel miocardio.

Che una parte, almeno, delle fibre del nervo anabolico eserciti un'azione diretta sulla sostanza delle cellule miocardiche, e che quest'azione possa essere di duplice natura, probabilmente sopra due specie distinte di cellule miocardiche (diminuzione della frequenza del ritmo, rispettivamente arresto e abbassamento del tono), ormai sembra fuori dubbio. A giudicare per analogia dagli altri nervi motori, si può ammettere che anche i nervi catabolici del cuore agiscano direttamente sulla sostanza delle cellule miocardiche. Nemmeno nei processi dell'innervazione estrinseca si vede, dunque, quale possa essere la funzione dei gangli intracardiaci.

Per compenso, da tutto ciò risalta ancora meglio l'importanza dei nervi estrinseci nella funzione cardiaca. Noi siamo in grado di affermare che essi non *determinano* il ritmo cardiaco, nè lo *regolano*; ma eccitano negli elementi muscolari del cuore, secondo i bisogni, e tengono sempre vivi i due processi

antagonistici dell' integrazione e della disintegrazione, che sono la causa intima e unica del ritmo. Tutte le volte che, alla fine di una contrazione del miocardio, la sua sostanza vivente viene a trovarsi dotata di maggior capacità assimilativa, tutte le volte che alla fine del periodo integrativo essa viene a trovarsi dotata di maggior capacità disintegrativa, essa sostanza vivente del miocardio riceve come un aiuto, come un sostegno esteriore a compiere rispettivamente la assimilazione e la disassimilazione dall' innervazione dei due nervi anabolico e catabolico. La loro influenza, durante la vita embrionale e nella vita degli esseri più bassi è superflua, data la semplicità e la relativa costanza del giuoco di azioni e reazioni fra l' individuo e l'ambiente esteriore. La loro influenza acquista la massima importanza, nella vita ultraembrionale e in quella degli esseri superiori, vale a dire quando il giuoco delle vicendevoli azioni e reazioni fra l' individuo e l'ambiente esteriore si viene complicando ed estendendo. (Io ho dimostrato sperimentalmente che la stimolazione del vago non modifica menomamente la funzione cardiaca durante tutta la vita embrionale del pollo, mentre nel pulcino di poche ore la stimolazione del vago ha i soliti effetti ben noti).

Io spero che nessuno vorrà scambiare il tono innervativo antagonistico sotto cui trovansi incessantemente i due opposti processi metabolici nell'interno della sostanza delle cellule miocardiche, con uno stimolo esteriore, e pensare che io così rinunzi alle vedute esposte dianzi sull' automatismo e la ritmicità dei fenomeni biologici.

Ognun vede, poi, come il cuore si trovi, da questo punto di vista, in condizioni affatto eccezionali.

Non che altri organi e tessuti muscolari manchino d'una doppia innervazione antagonistica analoga; chè anzi, per citare alcuni esempi, già il Pawlow dimostrò una tale innervazione nel muscolo adduttore dell' Anodonta, e il Biedermann, più tardi, osservò che il muscolo adduttore della pinza del gambero è innervato da fibre motrici e inibitorie contenute in uno stesso tronco nervoso.

Ma una distinzione netta dei due ordini di fibre in due o

più tronchi nervosi differenti, una differenziazione così marcata delle due funzioni antagonistiche non s'incontrano che nell'innervazione cardiaca degli animali superiori.

Merita qui d'essere rammentato il fatto che, come risulta dalle ricerche eseguite finora sugli invertebrati, l'innervazione inibitoria par che preceda l'altra nello sviluppo filogenetico degli esseri viventi, almeno per ciò che riguarda il cuore. Ciò starebbe ad indicare, come del resto è anche logico, che i processi riparatori, ricostruttivi, assimilatori si compiono, anche nella sostanza vivente, con maggior difficoltà dei processi disintegrativi, e però ricevono più presto l'aiuto d'un'innervazione anabolica.

Noi crediamo che, oltre che nel potere ritmico automatico risiedente negli elementi muscolari meno differenziati del cuore, in questa duplice assai differenziata innervazione estrinseca, il cuore trovi la forza a funzionare incessantemente per l'intera vita dell'individuo.

Se è vero dunque che nessun altro organo lavora tanto e senza interruzione dal primo apparire della vita individuale sino alla morte, egli è anche vero che in nessuno altro organo *ceteris paribus*, è assicurato, oltre che dalle capacità chimiche proprie, da una innervazione trofica speciale, un così incessante ritmo della sua intima nutrizione.

Ma c'è stato chi ha voluto attribuire ai nervi cardiaci la capacità di essere essi stessi la sede di origine del ritmo del cuore. Ora per quanto noi siamo abituati a cousiderare i tronchi nervosi periferici dotati della proprietà di condurre stimoli generatisi in cellule nervose centrali, ma non di generare stimoli essi stessi, pure l'autorità del nome di uno dei pochi che si fecero difensori di quest'ipotesi, ci obbliga a soffermarci un momento sopra tale questione.

M. Schiff considerò, dunque le fibre nervose come sorgente dell'eccitazione periodica del miocardio; esse sarebbero normalmente e continuamente stimolate dal sangue; e la stimolazione continua si trasformerebbe in eccitazione periodica, ritmica per effetto del facile affaticamento delle fibre nervose, al cui periodo di riposo corrisponderebbe l'intervallo fra due contrazioni cardiache.

Quest' affermazione del grande fisiologo, di recente rapito alla scienza, non è però sostenibile, sia perchè il cuore anche vuoto di sangue, e il cuore embrionale del 2°-3° giorno di sviluppo affatto privo di elementi nervosi pulsano ritmicamente, sia perchè nessun fatto può essere invocato a sostegno del così facile affaticamento dei nervi periferici in generale e dei nervi cardiaci in specie, ammesso dall'A., sia perchè la muscolatura dei ventricoli, degli atri, del seno venoso e delle grandi vene del cuore risponde alla stimolazione diretta continua con contrazioni ritmiche, non continue, quando lo stimolo non sia straordinariamente intenso.

III. — Azione dei vapori d'etere e di cloroformio sul cuore.

Quale è dunque la funzione dei gangli intrinseci del cuore? Rispondiamo subito che siamo ben lontani dal poterla indicare. In ogni modo le osservazioni raccolte e le esperienze istituite finora escludono solamente la loro indispensabilità nella funzione motoria ritmica del cuore, ed affermano che il trofismo della muscolatura di quest' organo è sotto il governo dei suoi nervi estrinseci.

Voglio intanto riferire alcune mie ricerche sull'azione degli anestetici sul cuore.

È noto come Cl. Bernard abbia stabilito che tutti i protoplasmi viventi risentano l' azione di queste sostanze, ma che i primi elementi cellulari ad esserne colpiti sono le cellule nervose centrali. Era dunque giustificato di indagare se con questo mezzo si potesse riuscire a distinguere la funzione dei gangli intracardiaci da quella del tessuto muscolare. Senza dubbio, non è facile stabilire il limite dove finisce l'azione del tossìco sugli elementi nervosi e dove comincia la sua azione sugli elementi muscolari; ma la sensibilità di questo mezzo d'indagine è relativamente assai grande, potendo far agire l' etere e il cloroformio, di cui mi son servito, in forma di vapori.

Già lo Scheinesson fece notare che il cloroformio diminuisce l' energia dell' attività cardiaca, in quanto che esso

agisce direttamente sull'apparato muscolo-motore che si trova nel cuore. Ma aggiunse che bisogna lasciare insoluta la questione se il cloroformio esercita la sua influenza paralizzante esclusivamente o prevalentemente sulle parti nervose o sulla sostanza muscolare o su entrambe.

Solo lo Steiner credette di poter affermare che i gangli del seno sono colpiti dall'azione deleteria del cloroformio in un momento in cui il miocardio non presenta alcuna essenziale alterazione. Egli trovò che il cloroformio diminuisce la frequenza delle pulsazioni del cuore di rana separato dall'organismo, dopo che in alcuni casi meglio studiati s'era verificato un aumento della frequenza. In fine, il cuore si arresta, per paralisi del seno, vale a dire del segmento che imprime alle altre parti del cuore il movimento.

Dalle mie ricerche resulta innanzi tutto che non v'ha una differenza degna di nota fra gli effetti dell'azione dell'etere e quelli dell'azione del cloroformio.

Per osservare l'azione di dosi minime e gradualmente crescenti io cominciavo dal far cadere poche gocce di etere o di cloroformio sulle pareti interne della camera umida, in cui era contenuto l'animale, cui era stato distrutto l'asse cerebro-spinale e scoperto il cuore, che era sospeso secondo il metodo di Engelmann. Se volevo osservare l'azione repentina di forti dosi di questi veleni, ne facevo cadere una quantità considerevole nella camera umida, senza che essi mai venissero in sostanza a contatto col cuore. Questo era sempre pieno di sangue e nelle sue normali connessioni.

Cercherò di esporre nel modo più breve i resultati delle mie esperienze:

1. I vapori d'etere o di cloroformio, fatti agire in quantità considerevole, sopra un cuore intero di rospo, sospeso *in situ* e ripieno di sangue, dopo averne rallentato di poco la frequenza, lo paralizzano d'un tratto.

Alla paralisi segue un abbassamento del tono generale del preparato. Dopo un certo tempo, che si può abbreviare lavando il cuore con soluzione fisiologica di Na Cl, esso riprende spontaneamente a pulsare, da prima assai lentamente e irrego-

larmente, formando qua e là dei gruppi periodici; finalmente la funzione ritmica si fa regolare. L' altezza delle contrazioni, alcune volte diminuisce anche essa prima della paralisi, alcune altre no; ma ciò dipende dalla rapidità dell' azione dei vapori tossici, ossia dalla quantità di etere o di cloroformio introdotta repentinamente nella camera umida. Quando la funzione cardiaca riprende spontaneamente, essa si presenta sempre meno energica.

6. 5. 4. 3. 2. 1.

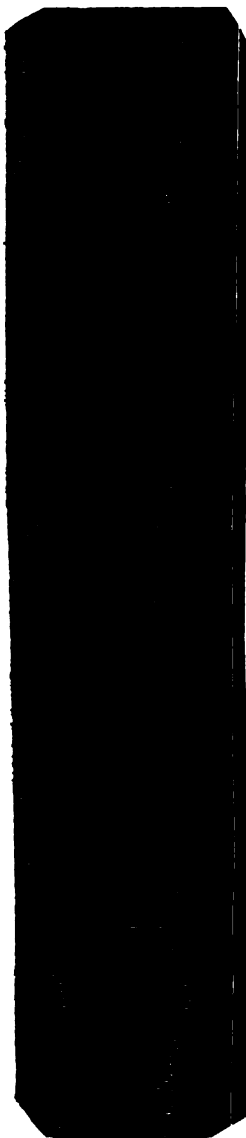



FIGURA 9. — Cuore di *Bufo viridis*, sospeso *in situ* e pieno di sangue. — In 1 comincia ad agire il vapore di cloroformio; in 2 il cuore si arresta; in 3 si cessa di registrare il tracciato; in 4 il cuore ricomincia spontaneamente a pulsare assai lentamente; in 5 la funzione diventa irregolare; in 6 la frequenza delle contrazioni si comincia ad avvicinare alla norma. (Temp. 14° C.).

2. Quando la sostanza tossica agisce in piccole dosi e gradatamente, si assiste a un regolare digradarsi della funzione motoria, fino al punto di essere impercettibile e di cessare affatto. La frequenza, le altezze di contrazione man mano vanno scemando, fino a scomparire. Ma in proporzione della diminuzione della frequenza, molto maggiore è la diminuzione dell' energia delle contrazioni cardiache: al momento in cui il cuore cessa di contrarsi, l' altezza dell' ultima contrazione è appena percettibile, mentre l' intervallo fra questa e la contrazione precedente è meno del doppio superiore all' intervallo fra due contrazioni normali dello stesso cuore. È un fatto questo che merita d' essere considerato a parte; e lo farò in seguito.

Qualche irregolarità del ritmo comparisce anche qua e là.

3. Notevole è il fatto che in questa paralisi graduale della funzione cardiaca il cardiogramma subisce modificazioni che costituiscono, forse, la parte più interessante di queste mie ricerche.

La parte del cardiogramma che si riferisce alla contrazione ventricolare non si modifica gran fatto. Scemano, invece, assai considerevolmente in ampiezza, fin quasi a scomparire affatto nel tracciato, le ondulazioni dovute alla contrazione del seno e dell' atrio. Si noti che ciò può avvenire quando ancora le contrazioni ventricolari sono abbastanza energiche.

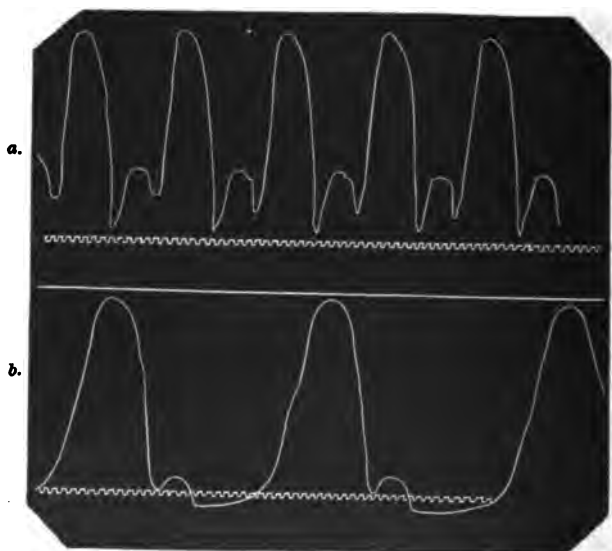



Figura 10. — Cuore di *Bufo vulgaris*. Azione del cloroformio.
a. Tracciato normale.
b. Pochi istanti dopo che ha cominciato ad agire il vapore di cloroformio. (Tempo $^1/_{12}''$. Temp. 14°,5 C.).

Il fenomeno inverso si verifica, quando il cuore dopo la paralisi, ricomincia a pulsare: dapprima le contrazioni del seno e dell' atrio sono appena visibili, man mano aumentano d'ampiezza, fino a raggiungere quella delle contrazioni normali.

Sembra, per ciò, che il seno e gli atri siano i segmenti prima colpiti dall' azione dei vapori d' etere e di cloroformio:

ciò che non s'incontrerà, del resto, difficoltà ad ammettere, pensando che essi sono anche i segmenti a pareti più sottili, sulla tenue muscolatura delle quali l'azione della sostanza diffusa per ogni dove nella camera umida deve necessariamente e prevalentemente esercitarsi, anzi che sulle spesse pareti ventricolari.

Io ho voluto per ciò studiare a parte l'azione dei vapori d'etere e di cloroformio sugli atri e sul seno venoso. In queste

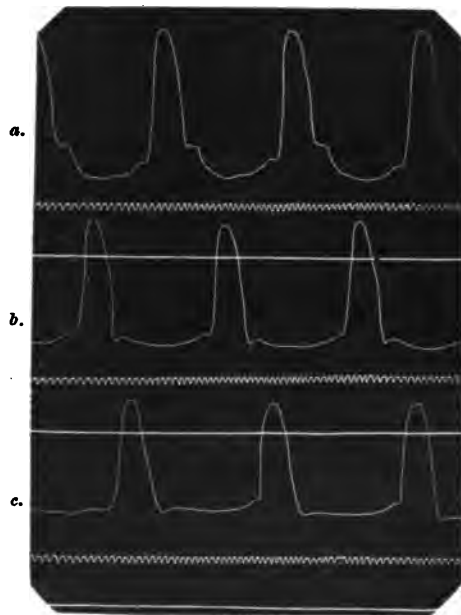



FIGURA 11. — Cuore di *Rana esculenta*. Azione dell' etere.
a. Tracciato normale.
b. Pochi istanti dopo che ha cominciato ad agire il vapor d' etere.
c. Più tardi. (Tempo $^{1}/_{12}$''. Temp. 14°,5 C.).

esperienze, o gli atri o il seno erano direttamente sospesi alla leva scrivente, dopo l' asportazione del ventricolo, o di questo insieme con gli atri. Per impedire la fuoriuscita del sangue, prima dell' amputazione del ventricolo passavo una legatura intorno al solco atro-ventricolare, e rispettivamente prima dell'amputazione del ventricolo insieme con gli atri, passavo una le-

gatura nel limite fra il seno venoso e gli atri. I monconi rimanenti *in situ* eran per ciò sempre ripieni di sangue, che non aveva però più vie di scarico.

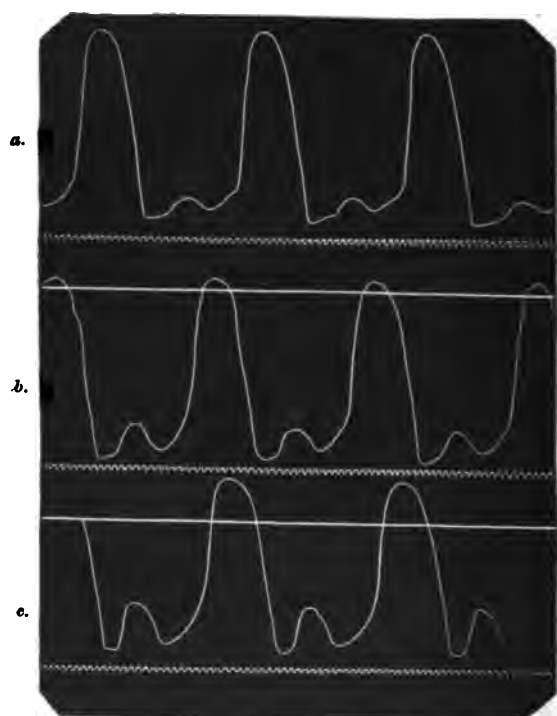



FIGURA 12. — Cuore di *Bufo vulgaris* (lo stesso della figura 10).
a, *b*, *c*. Tre stadi successivi della funzione cardiaca, dopo che il cuore ha cominciato a riaversi dall' azione del cloroformio.
(Tempo $^1/_{12}$''. Temp. 14°,5 C.).

Gli atri e il seno venoso, in simili condizioni, presentano il noto fenomeno delle « oscillazioni del tono. » Ma non è di questo che noi vogliamo occuparci.

Per il fatto dell' impedito deflusso del sangue, il tracciato atriale, in simili condizioni, assume un aspetto affatto abnorme, presentando la curva una quantità di ondulazioni, che non si saprebbe a prima vista a che attribuire. Ma, ispezionando attentamente gli atri durante la loro funzione, (specialmente se si

tratta degli atri molto grandi di un *Bufo vulgaris*) si acquista subito la convinzione che il fenomeno è dovuto a che, durante l'intiera rivoluzione atriale, il sangue cacciato dalle parti che

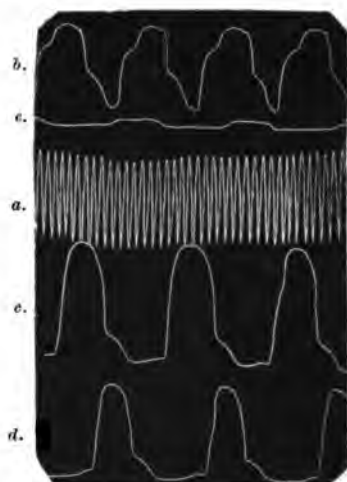



FIGURA 13. — Preparato atri + seno di *Bufo vulgaris*, ripieno di sangue e sospeso *in situ*.
a. Tracciato normale, a piccola velocità del cilindro.
b. » » a grande » »
c. Pochi istanti dopo che ha cominciato ad agire il cloroformio.
d. Più tardi.
e. Poco prima della paralisi completa. (Temp. 15° C.).

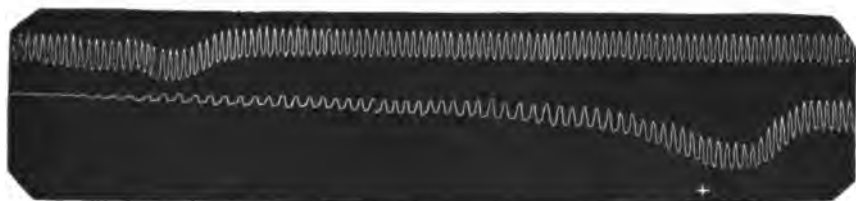



FIGURA 14. — Seno venoso di *Bufo vulgaris* sospeso *in situ* e pieno di sangue. In + agisce il cloroformio.

entrano successivamente in contrazione è necessariamente risospinto in quelle o non ancora contratte o che hanno già compiuto la propria fase contrattoria, le quali a loro volta reagiscono a questa distensione. Si scorge infatti che la parete atriale si contrae in una zona, mentre si sfianca e protrude in

differenti punti, lì dove il tono muscolare minore permette al sangue di distenderla; si osservano così dei movimenti vermicolari irregolarissimi, che ricordano quelli d'un cuore avvelenato con digitalina o con veleno di rospo (Bufalini), i quali trovano la loro espressione grafica nelle abnormi ondulazioni del tracciato dianzi ricordate.

Ora il primo effetto dell'azione dei vapori di cloroformio è la graduale scomparsa di tutte queste ondulazioni, regolarizzandosi la forma del cardiogramma; che così non si saprebbe distinguere da quello d'un cuore intiero normale. E poichè credo non vi sia alcuna difficoltà ad ammettere che le dette ondulazioni sian dovute a reazioni toniche della parete atriale allo stimolo pressorio del sangue, mi sembra logico concludere che il primo effetto dei vapori di cloroformio è la graduale abolizione dell'esagerato tono muscolare provocato dall'abnorme pressione esercitata sulla superficie interna degli atri dal sangue cui s'è impedito il deflusso. Gli atri infatti si dilatano e si allungano, cedendo al peso della leva, mentre prima eran globosi e come bitorzoluti: una differenza, che si deduce, del resto, anche dalla forma del tracciato prima e dopo l'azione del cloroformio.

Tutto ciò si verifica in un tempo in cui nè la frequenza del ritmo, nè l'energia delle contrazioni, degli atri e del seno, presentano alcuna alterazione.

In seguito, il ritmo si rallenta e le contrazioni si fanno in proporzione di molto meno energiche, mentre è già scomparsa l'ondulazione dovuta alla contrazione del seno.

La diminuzione del tono atriale si scorge anche nella fig. 10, in cui la linea diastolica, in seguito all'azione del cloroformio, discende al di sotto dell'asse delle ascisse, quando ancora nel tracciato si può appena constatare una diminuzione della altezza delle contrazioni atriali.

Evidentemente questo di cui noi parliamo è un tono riflesso delle pareti muscolari degli atri d'origine pressoria: il cloroformio, diminuendo da prima l'irritabilità (Cl. Bernard) degli elementi muscolari, deprime anche il tono di essi.

In seguito all'azione del cloroformio sul seno venoso, si

osserva una graduale degradazione della sua funzione ritmica, la quale si spegne lentamente senza presentare alcuna irregolarità durante l' intiero suo decorso.

4. In altre ricerche, io studiai anche l' azione del cloroformio sul cuore embrionale di pollo; e trovai che in seguito alla somministrazione di piccole quantità di esso, la funzione del cuore diventa man mano aritmica e poi alloritmica. Interpretai il fatto, ammettendo che, essendo le pareti muscolari del cuore embrionale, per la loro mollezza e sottigliezza, molto accessibili all' azione del veleno, un certo numero di fibre miocardiche degeneravano prima di altre, sì che l' onda di contrazione in vece di propagarsi regolarmente doveva subire dei rallentamenti e sorpassare dei blocchi di fibre dotati di minor potere conduttore.

Noi siamo ora in grado di giudicare, in via generale, gli effetti dell' azione dei vapori d' etere e di cloroformio, e di penetrare alquanto a dentro nella funzione cardiaca e nel suo determinismo.

E innanzi tutto vogliamo rilevare il fatto che se la paralisi cardiaca, che si verifica per effetto di queste sostanze, fosse dovuta ad una cessazione primitiva della funzione dei ganglî intracardiaci, come crede lo Steiner, noi dovremmo trovare, subito dopo l' arresto del cuore, un' irritabilità più o meno diminuita, ma mai completamente abolita del miocardio.

5. In vece io ho costantemente osservato che stimoli elettrici unici o tetanizzanti possono provocare contrazioni del solo ventricolo, per un certo tempo dopo la paralisi cardiaca, ma non provocano contrazioni del seno venoso nè quando la paralisi è repentina nè quando la paralisi è lenta e graduale.

Questo fatto mi sembra molto eloquente. Per l' azione di dosi considerevoli di vapori d' etere o di cloroformio, si ha una repentina abolizione dell' eccitabilità del seno venoso, mentre il veleno non ha avuto ancora il tempo di abolire completamente l' eccitabilità delle spesse pareti muscolari del ventricolo. Se la paralisi è lenta e graduale, il veleno ha agito per lungo tempo contemporaneamente su tutti i segmenti del cuore, ma non tutti ne hanno risentito ugualmente l' azione a uno stesso momento; il ventricolo rimane ancora per un certo tempo eccita-

bile, dopo che il seno, e per ciò anche il cuore intero s' è arrestato.

Il primo segmento ad essere paralizzato è dunque il seno venoso, quello cioè donde parte ritmicamente lo stimolo fisiologico alla contrazione del cuore.

Ecco perchè la paralisi per etere o cloroformio è sempre una paralisi completa di tutto il cuore.

Qui non si ha mai paralisi del ventricolo, mentre gli atri e il seno, o questo solamente continuano a pulsare. Il cuore si arresta, dopo aver diminuito l'energia delle sue contrazioni più o meno, quando è abolita la funzione del seno.

Noi non pretendiamo con ciò di aver dimostrato la nessuna importanza dei gangli intracardiaci nella funzione ritmica del cuore. Noi vogliamo solamente notare che o le cellule nervose dei gangli cardiaci sono meno accessibili all' azione degli anestetici che le cellule muscolari, in cui s'origina il ritmo cardiaco, o sono, come le cellule nervose centrali, più facilmente vulnerabili di qualsiasi altro elemento morfologico dell' organismo: nel primo caso la funzione ritmica del cuore cesserebbe solo perchè gl' impulsi ritmici provenienti dai gangli troverebbero la sostanza delle cellule miocardiche talmente alterata da non essere in grado di rispondere; nel secondo, la funzione ritmica continuerebbe per un certo tempo dopo la paralisi dei centri gangliari, vale a dire potrebbe sussistere come proprietà muscolare indipendentemente da essi. Ma v'è anche una terza probabilità: che cioè, data la sottigliezza delle pareti del seno venoso, gli elementi nervosi e muscolari siano colpiti contemporaneamente.

È inutile discutere qui quale di questi tre casi possa in realtà essere il più probabile, dal momento che noi non abbiamo il mezzo di dimostrare sperimentalmente quale esso sia veramente.

Tuttavia a me sembra poco probabile che gli elementi muscolari siano colpiti prima degli elementi nervosi o contemporaneamente a questi. Ammettendo invece con Cl. Bernard che le cellule gangliari siano le prime ad esser messe fuori di funzione, l' aver trovato che subito dopo l'arresto del cuore

rimane eccitabile solo il ventricolo mentre negli atri e nel seno l'arresto coincide con l'abolizione dell'irritabilità è un fatto che sta a sostegno della natura miogena del ritmo cardiaco, giacchè dimostrerebbe che il moto ritmico dura fino al momento in cui le cellule miocardiche, sede dell'automatismo del cuore, non siano talmente alterate da divenire ineccitabili per gli stimoli esterni.

Mi si permetta, perciò, di esporre la mia convinzione personale a questo riguardo. Essa è che i vapori d'etere e di cloroformio man mano diminuiscono e finalmente aboliscono l'irritabilità e la contrattilità degli elementi muscolari degli atri venosi e del seno, in cui ritmicamente insorge lo stimolo fisiologico alla contrazione del cuore. Il lento digradare della funzione motoria ritmica nell'avvelenamento graduale del cuore e la mancanza assoluta d'ogni irregolarità nel succedersi del fenomeno, stanno per me ad indicare che sono primitivamente colpiti i punti d'origine dell'onda ritmica d'eccitazione e di contrazione.

Due altri fatti risultano da queste ricerche con sufficiente chiarezza.

Il primo è, che il processo d'eccitazione può propagarsi a traverso il seno e gli atri, che si dimostrano almeno in parte alterati dall'azione dei due veleni, ai ventricoli, che in sul principio dimostrano appena di averne risentito l'azione deleteria. Abbiamo visto infatti che, in un primo periodo le contrazioni del seno e degli atri quasi spariscono dal cardiogramma, quando le contrazioni ventricolari sono ancora relativamente assai energiche. Un effetto simile ottenne l'Engelmann, avvelenando gli atri di rana con acqua distillata.

Il secondo è che lo stimolo fisiologico, insorgente ritmicamente nel segmento automatico del cuore, per effetto dell'etere e del cloroformio viene ad essere gradatamente indebolito, fino al punto da divenire incapace a provocare un movimento dell'organo. La funzione motoria si spegne gradatamente, per ciò che riguarda l'energia delle contrazioni, senza alcuna alterazione del ritmo, ad eccezione di un certo rallentamento della frequenza delle contrazioni.

*
* *

Come effetto primitivo dell' azione dell' etere e del cloroformio abbiamo anche osservato l' abolizione della reazione tonica della parete atriale agli stimoli pressori interni esercitati dal sangue, perdurando la funzione ritmica regolare dell'organo. Noi abbiamo, è vero, interpretato il fatto come dovuto ad una diminuzione iniziale dell' irritabilità del tessuto contrattile; ma potrebbe anche, esso solo, essere interpretato come un effetto della alterazione degli apparati nervosi intrinseci dell' organo. In tal caso noi potremmo riconoscere a questi apparati gangliari la funzione di presiedere alle rapide reazioni toniche del muscolo cardiaco agli stimoli portati sopra di esso, considerandoli come brevi archi riflessi locali, cui Exner ha dato tanta importanza nel compimento delle funzioni motorie degli organi muscolari in generale. Essi conterrebbero così elementi sensitivi e motori; e noi potremmo assumere questa funzione sotto la legge formulata dall' Edinger, sulla base delle ricerche dell' Exner, — che, cioè, una ricchissima innervazione sensitiva è necessaria, non solamente per numerosi processi riflessi, ma anche per la regolazione di molti movimenti apparentemente non automatici — dicendo, che questa ricca innervazione intrinseca del cuore serve alla regolazione dei suoi movimenti essenzialmente automatici, nel senso che essa governi il tono delle sue pareti muscolari, in rapporto agl' innumerevoli stimoli che le variazioni della pressione sanguigna portano sulla superficie interna di questo muscolo cavo.

Ma, a parte questa probabile funzione degli apparati gangliari intrinseci del cuore, dobbiamo riconoscere che per mezzo di numerose ricerche s' è potuto con maggiore o minor probabilità stabilire ciò che non è dovuto ai gangli nella funzione cardiaca, ma che nessuno è ancora riuscito a indicare, anche approssimativamente quale sia la funzione loro. Non sono la causa del movimento ritmico del cuore, che è di natura miogena; al trofismo del miocardio par che presieda il vago; è inverisimile che essi rappresentino centri di riflessi locali, nel senso di Kaiser.

Per ora, dunque, la loro funzione ci rimane così oscura come quella dei gangli che si trovano disseminati negli altri visceri.

Ciò che a noi importa, però di stabilire qui definitivamente, come conclusione generale, è che la causa del movimento cardiaco risiede nelle cellule miocardiche del seno, dove esso si origina, in forma di impulsi ritmici automatici, esprimenti ritmiche disintegrazioni e integrazioni della sostanza contrattile, e donde esso si propaga, da una cellula all'altra del miocardio e per il tramite del sarcoplasma, a tutto il cuore.

Tutto ci conduce, per ora, ad abbracciare la dottrina della natura miogena del ritmo cardiaco, e della sua indipendenza dai gangli nervosi del cuore.

E finalmente, come legge generale di biologia, noi crediamo di poter affermare che la forma ritmica d'ogni funzione normale è l'espressione dinamica dell'alterno ritmo del movimento chimico-trofico che si svolge nell'interno della sostanza vivente e che resulta di due fasi incessantemente e necessariamente succedentisi una all'altra: la fase catabolica o disintegrativa e la fase anabolica o integrativa.

Firenze, Novembre del 1896.

BIBLIOGRAFIA.

1. AUBERT, Pflüger's Archiv, Bd. 24, pag. 357-391, 1881.
2. BARFURTH, Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 38, 1891.
3. BERNSTEIN, Centr. f. d. med. Wiss., 1876, pag. 385-387.
4. BIDDER. Müller's Arch. 1852, pag. 163.
5. BIDDER E WOLKMANN. Die Selbständigkeit d. symp. Nervensystems durch anat. Untersuch. nachgewiesen. — Leipzig, 1842.
6. BOHEMANN. Anatom. Anzeiger, Bd. 10, n. 10, 1894.
7. BIEDERMANN. Sitz-ber. d. Wien. Akad., Bd. 82, 3. Abth., 1880, pag. 257; e Bd. 89, III Abth., 1884, pag. 19-55.
8. —— Elektrophysiologie, 1895, pag. 90.
9. BOTTAZZI, Centr. f. Physiol., 1896, 3 Oct., Heft 14.
10. —— Arch. de Physiol. de Brown-Séquard: Octobre 1896.
11. —— Journal of Physiology, vol. 21, 1897.
12. —— Sullo sviluppo embrionale della funzione motoria negli organi a cellule muscolari. — Firenze, 1897.
13. BOWMANN, Philos. Transact., 1845.
14. BOWDITCH, Ludwig's Arbeiten, Bd. 7, 1871, pag. 652.
15. DE BRUYNE, Arch. de Biologie de van Beneden, vol. 12, 1892.
16. L. BRUNTON E CASH, Proc. of the Roy. Soc., vol. 35, pag. 455, 1883.
17. BUSACHI, Beitr. zur path. Anat., etc. von Ziegler, Bd. 4, Heft 2, 1888.
18. BUDGE, Untersuch. über das Nervensystem, Heft 2, Frankfurt a. M., 1842.
19. TH. L. BISCHOFF, Pflüger's Arch., Bd. 25, 1877, pag. 50-51.
20. T. L. BRUNTON E F. FAYRER, Proc. of the Roy. Soc., vol. 25, 1876, pag. 174-176.
21. BROWN-SÉQUARD, Soc. d. Biol., 4 déc. 1880.
22. V. BASCH, Sitz-ber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, Bd. 79, (III Abth.) Januar 1879.
23. H. J. BERKLEY, Anat. Anzeiger, Bd. 9, 1894, pag. 33.
24. E. G. BALBIANI, Soc. de Biol., 1864.
25. A. BRANDT, Bullet. de l'Acad. imp. de St. Petersbourg, 20 aprile (1° maggio), 1865; e Ibidem, tom. 6, 1866, pag. 101.
26. DASTRE, Journal de l'Anat. et de la Physiol., 1882.
27. DOGIEL, Arch. f. mikr. Anat., Bd. 14, pag. 476, 1877.
28. DUCCESCHI, Arch. per le sc. mediche, 1897, vol. 21, pag. 121-189.
29. DASTRE E MORAT, Compt. rend., vol. 89, 1879, pag. 177-180 e pag. 370-372.
30-35. ENGELMANN, Pflüger's Arch., Bd. 52, 1892; Bd. 54, 1894; Bd. 59, 1894; Bd. 61, 1895; Bd. 64, 1896; Bd. 62, 1896.

36. ENGELMANN, Proc. verb. K. Acad. v. wet. Amsterd., Verg., vol. 16, Dez. 1874.
37. —— Pflüger's Arch., Bd. 11, 1875, pag. 432-464 e 465-480.
38. —— Pflüger's Arch., Bd. 4, 1870, pag. 33-50.
39. —— Pfluger's Arch., Bd. 24, 1882, pag. 425.
40. —— Pflüger's Arch., Bd. 29, pag. 426, 1882.
41. —— Pflüger's Arch., Bd. 2, pag. 243-293, 1869.
42. —— Hermann's Handbuch der Physiol., Bd. 1, Th. 1, pag. 395.
43. ECKHARD, Beitr. zur Anat. und Physiol., Bd. 8, pag. 147; Bd. 1, pag. 153, 1868; Bd. 12, 1888, pag. 217-226.
44. FANO, Lo Sperimentale, 1885.
45. —— Arch. per le sc. med., vol. 14, n. 6.
46. —— Beitr. zur Physiol. C. Ludwig gewidmet, 1887.
47. —— Arch. ital. de Biologie. Tome 9, pag. 61, 1888.
48. —— Lo Sperimentale, 1883; Ibid., 1884.
49. —— Di alcuni fondamenti fisiologici del pensiero. — Milano-Torino, 1885.
50. —— La Salute, 1885.
51. —— Saggio sperimentale sul meccanismo dei movimenti volontari nella testuggine palustre. — Firenze, 1884.
52. FANO E LOURIE, Riv. sperim. di Freniatria e Medic. legale, vol. 11, fasc. 4°, 1885.
53. FICK, Sitz.-ber. d. phis.-med. Gesell. zu Würzburg. Sitz. v. 13 Juni, 1874.
54. FOSTER E DEW-SMITH, Journ of Anat. and Physiol., vol. 10, pag. 735-771, 1886.
55. FREDERICQ, Arch. de Physiol., 1877.
56. FOSTER, Pflüger's Arch., Bd. 5, 1872, pag. 191-195.
57. —— Arch. f. mikr. Anat., Bd. 14, 1876, pag. 317-321.
58. FOSTER E DEW-SMITH, Proc. of the Roy. Soc. London, 1875, pag. 318-343.
59. GAD, Arch. f. (Anat. und) Phys. 1880, pag. 1.
60. GASKELL, Arch. de Physiol, 1888, pag. 56-68.
61. —— Journ. of Physiol., vol. 4, 1883, pag. 69.
62. —— Brit. med. Journal, 1882, vol. 2, pag. 572.
63. —— Journ. of Physiol., vol. 3, pag. 48-75, 1880.
64. GAULE, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1878, pag. 291.
65. M. GUIRE, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1878, pag. 321-322.
66. GLEY, Arch. de Physiol., 1889, pag. 503.
67. HEIDENHAIN, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1858, pag. 479.
68. W. HIS. Unters. über die erste Anlage des Wirbelthierleibes — Leipzig, 1868, pag. 100 e seg.
69. HIS jun., Abhandl. d. math.-phys. Klas. d. Königl. Sächs. Gesell. d. Wiss., Bd. 18, n. 1. — Leipzig, 1891.
70. —— Arbeiten aus d. med. Klinik zu Leipzig, 1893.
71. HIS e ROMBERG, Ibidem, 1893.
72. D. HUIZINGA, Pflüger's Arch., Bd. 11, 1875, pag. 207-221.

73. HEIDENHAIN, Pflüger's Arch., Bd. 27, 1882, pag. 383–411.
74. HIS jun., Wien. medic. Blätter, 1894, pag. 658–660.
75. J. F. HEYMANS et L. DEMOOR, Arch. de Biol., tome 13, 1893, pag. 619–676.
76. W. HÄCKER, Arch. f. mikr. Anatomie, Bd. 41 e 42, 1893.
77. KAISER, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 29, pag. 204, 1892; Bd. 32, pag. 1 e seg., 1895, ecc.
78. KREHL e ROMBERG, Arbeit. aus d. med. Klinik zu Leipzig, 1893, pag. 50.
79. — —— Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 30, 1892, (pag. 71), 49–92 e 157–158.
80. KRONECKER, e STIRLING, Beitr. zur Anat. u. Phys. C. Ludwig gewidnet, 1875, pag. 173–204.
81. KRUKENBERG, Vergl.-physiol. Studien, 1, 3, Abth., 1880, pag. 1–22.
82. KULTSCHITZKY, Biol. Centralbl., Bd. 7, pag. 572, 1887–88.
83. PH. KNOLL, Wien. Akad. d. Wiss. (3), Bd. 102, 1893, pag. 387-405.
84. LOVEN, Mitth. aus d. phys. Labor. des Car. med.-chir. Inst. zu Stockholm, 4, 1886, pag. 3–19.
85. LANGENDORFF, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1884, Suppl.
86. —— Pflüger's Arch., Bd. 57, 1894; Bd. 61, 1895.
87. LAULANIÉ, Compt. rend. Soc. de Biol., 1886, pag. 29.
88. LIVON, Compt. Rend. Ac. d. Sc., 1879, pag. 956.
89. LAULANIÉ, Compt. Rend. Acad. d. Scienc., vol. 101, pag. 669, 1885.
90. LÖWIT, Pflüger's Arch., Bd. 25, pag. 399–495, 1881.
91. LUDWIG, Müller's Arch., 1848, pag. 139.
92. LUDWIG e LUCHSINGER, Pflüger's Arch., Bd. 25, pag. 211–250, 1881.
93. LUCHSINGER, Pflüger's Arch., Bd. 26, 1881, pag. 445–458.
94. LUCIANI, Ludwig's Arbeiten, 1873, pag. 11–94.
95. LANGENDORFF, Breslauer ärztl. Zeitschr., 1883, n. 7.
96. v. LUCOWICZ, Unt. aus d. phys. Inst. zu Halle. Bd. 2, 1890, pag. 223.
97. MAREY, Travaux du Laboratoire, vol. 2, pag. 63, 1875.
98. —— Compt. Rend. Acad. Scienc., vol. 82, pag. 408, 1876.
99. —— Ibid., vol. 89, 1879, p. 203-207.
100. MASSART, Bullett. Scientif. de la France et de la Belgique, vol. 25, 1893.
101. T. W. MILL, Journ of Phys., vol. 6, 1885, pag. 246-286; Ibid., vol. 7, 1886, pag. 81–95.
102. —— Journ. of. Anat. and Phys., vol. 20, 1886, pag. 549–558.
103. —— Ibib., vol. 21, 1886, pag. 1-20, e vol. 22, 1887, pag. 1-8.
104. MORITZ, Zeitschr. f. Biol., Bd. 32, 1895, pag. 313.
105. MOSSO, Arch. f. (Anat. und) Phys., pag. 89, 1890.
106. —— Atti d. R. Accad. d. Lincei, (3ª), vol. 5, pag. 295.
107. —— Ibidem, Ann. 282, 1884-85.
108. MERUNOWICZ, Ludwig's Arbeiten, 1875, pag. 252–298.

109. J. Müller, Handbuch d. Physiol., Bd. 1, 1834, pag. 152, 612 e 719; Bd. 2, 1837, pag. 66-73 e 51-52.
110. L. J. J. Muskens, (Cit. da Engelmann).
111. E. Meyer, Arch. de Physiol., 1893, pag. 184-191.
112. Nawrocki, Studien d. phys. Inst. zu Breslau, Bd. 1, 1861, pag. 110.
113. W. Pickering, Journ. of Physiol., vol. 14, 1893, pag. 383-466, e vol. 20, 1896, pag. 165
114. Th. Openschowski, Arch. f. mikr. Anat., Bd. 22, 1883, pag. 408.
115. Pagliani, Moleschott's Untersuch., Bd. 11, 1874, pag. 364.
116. Paladino, Contribuzione all'anatomia, istologia, e fisiologia del cuore. — Napoli, 1876.
117. Pflüger, Pflüger's Arch., Bd. 14, 1877, pag. 628-629.
118. Preyer, Specielle Physiol. d. Embryo. — Leipzig, 1884.
119. Roever, Krit. und exper. Unters. d. Nerveneinfl. auf die Erweit. und Veränger. der Blutgef. — Rostock, 1869.
120. Ransom, Journ. of. Physiol., vol. 5, 1884, pag. 261 e seg.
121. Ranvier, Leçons d'anat. générale. — Paris, 1880.
122. Remak, Müller's Arch., 1844, pag. 463.
123. —— Froriep's Notizen. 1838, pag. 137.
124. Richet, Physiologie des muscles et des nerf. 1882, pag. 126.
125. Romanes, Phylos. Transact., vol. 166, pag. 269-313 e vol. 167, pag. 652-752 e vol. del 1877.
126. Röther, Schmidt's Jahrbücher fur d. ges. Medic., 1891.
127. Rollett, Denkschr. d. mat.-naturw. Klasse. d. K. Akad. in Wien, Bd. 58.
128. —— Biol. Centralblatt. Bd. 11, n. 5-6, 1891.
129. Rossbach, Arbeit. a. d. zool. und zootom. Instit. zu Würzburg, 1874.
130. Riegel, Pflüger's Arch., Bd. 4, 1871, pag. 350-360.
131. M. J. Rossbach, Ber. d. K. Sächs. Akad. Math.-phys. Cl., 1874, pag. 193-201.
132. S. L. Schenk, Wien. Akad. d. Wiss., 1867, vol. 56, pag. 111-115.
133. Stanley Kent, Journ. of Physiol., vol. 14, 1892, pag. 233.
134. Schiff, Lezioni di fisiol. sperim. sul sist. nervoso encefalico. — Firenze, 1873, pag. 159.
135. Schönlein, Arch. für (Anat. und) Physiol., 1882, pag. 369.
136. —— Zeitschr. f. Biol., Bd. 30, 1893, pag. 187-220.
137. Scheinesson, In.-Diss., Dorpat, 1868.
138. Stannius, Zwei Reihen phys. Versuche. Rostock, 1851.
139. —— Müller's Arch., 1852, pag. 55.
140. Steiner, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1874, pag. 474.
141. Stienon, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1878, pag. 263-290.
142. Stefani, Memorie dell'Accad. Medico-chirurgica di Ferrara, 9 luglio 1878; ecc.
143. Saviotti, Virchow's Arch., Bd. 50, 1870, pag. 592-623.

144. G. N. Stewart, Journ. of Phys., vol. 12, 1892, pag. 59-164.
145. Al. Smirnow, Anat. Anzeig., Bd. 10, 1895, n. 23.
146. M. Schiff, Arch. f. phys. Heilkunde, Jahrg. 9, 1850, pag. 22–74 e 220–266.
147. —— Ibid., 1854, pag. 523.
148. Tigerstedt e Strömberg, Mitth. vom phys. Labor. d. Carolin. med.-chir. Instit. in Stockholm. Heft 5, 1888.
149. Tigerstedt, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1884, pag. 497-517.
150. Valentin, Lehrb. d. Phys. d. Menschen. Bd. 2, Abth. 2, 1848.
151. De Varigny, Arch. de Physiol. norm. path. (3e), Tome 7, pag. 185, 1886.
152. —— Journ. de l'Anat. et de la Physiol., vol. 29, 1893.
153. Volkmann. Wagner's Handbuch d. Physiol., Bd. 2, 1844, pag. 476, 606, 611, e seg.
154. —— Müller's Arch., 1884, pag. 359.
155. —— Müller's Arch., 1841, pag. 337.
156. Vignal, Arch. de physiol., 1881, etc.
157. Vulpian, Gaz. méd. de Paris, 1857, n. 1.
158. Ed. Weber, Wagner's Handwörterbuch d. Phys., III, 2, 1846, pag. 35.
159. Weissmann, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1861, pag. 42.
160. William, Journ. of Physiol., vol. 9, 1888, pag. 176.
161. —— Ibidem, vol. 6, 1885, pag. 192-245.
162. Wooldridge, Arch. f. (Anat. und) Phys., 1883, pag. 522.
163. R. Wernicke, Zur Physiol. d. embr. Herzens. In-Diss., Jena, 1876.
164. v. Wittich, Königsb. medic. Jahrb., Bd. 1, 1859, pag. 15.
165. M. William, Proc. Roy. Soc., vol. 44, 1888, pag. 206–208.
166. —— Ibid., pag. 287–292.
167. —— Journ. of Phys., vol. 9, 1888, pag. 345–395.

Per la rimanente Bibliografia, ved. inoltre:

168. Fano e Bottazzi. Articoli: « *Coeur embryonnaire*, *Physiologie comparée du coeur*, *Le Coeur considéré comme un muscle*, *Irritabilité du coeur*, *Elektrophysiologie du coeur*, *Automatisme du coeur* » del grande « Dictionnaire de Physiologie » edito da Ch. Richet. (Di prossima pubblicazione.)

Clinica Medica Generale di Torino, diretta dal prof. C. Bozzolo.

ALTERAZIONI RENALI NELL' OCCLUSIONE INTESTINALE.

RICERCHE SPERIMENTALI

DEI DOTTORI

L. FERRIO ED E. BOSIO.

È nozione oramai volgare di patologia che nel rene vengono a rispecchiarsi molti stati morbosi dell'organismo ed è noto pure che le alterazioni del canale digerente occasionano di frequente lesioni funzionali od anatomiche nei reni. Sotto questo concetto generale si raggruppa una serie numerosa di fatti clinici e sperimentali di grande importanza.

I prodotti di decomposizione che in via normale od anormale si formano nel tubo gastro-enterico passano nel sangue e devono esserne eliminati; di essi alcuni sono ben noti (fenolo, indolo, scatolo, leucina, tirosina, ecc.); altri sono dei tossici solubili molto attivi, la cui constatazione diretta venne fatta raramente nel contenuto gastrico od intestinale (Külneff [1], Bouveret e Devic [2], Cassaët e Ferré [3], Cassaët e Bénech [4], ecc.) ma la cui azione sull'organismo è un fatto generalmente accertato (autointossicazioni, coma, tetania gastrica, ecc.).

L'eliminazione di queste sostanze attraverso al rene è verosimilmente quella che ne induce le alterazioni, nello stesso modo come già ne produce l'eliminazione in quantità esagerata dei componenti abituali della secrezione orinaria, quali, ad esempio, l'urea (Mya e Vandoni), l'acido urico (Ebstein), l'acido ossalico.

---

[1] Külneff, *Berl. Klin. Woch.*, 1891, n. 44.
[2] Bouverет e Devic, *Société de biologie*, 23 juin 1894.
[3] Cassaët e Ferré, *ivi*, 27 juin 1894.
[4] Cassaët e Bénech, *ivi*, 28 juillet 1894.

L'incompleta digestione degli albuminoidi e degli idrati di carbonio nello stomaco e nella porzione superiore del tenue favorisce i processi putrefattivi che hanno luogo nell'ultimo tratto del tenue e nel crasso (Albertoni) (1) e l'aumento della putrefazione intestinale è segnalato nelle orine da un aumento dell'acido solforico coniugato.

In molte malattie gastriche ed intestinali compaiono nelle orine i segni classici della sofferenza renale.

L'albuminuria è di reperto frequente; essa venne riferita sia all'azione diretta di alcune sostanze (acetone, indolo, ecc.) sull'epitelio renale, sia alle sofferenze dell'epitelio medesimo indotte dall'impoverimento del sangue e dal difetto di ossigeno (Albertoni) (2).

Lorenz (3) nel catarro gastro-intestinale acuto ha trovato albuminuria grave e cilindri granulosi; lo stesso reperto trovò in un caso di colica saturnina, e albuminurie più o meno notevoli constatò in altri casi di disturbi della digestione; Bouchard ha trovato 17 volte su 100 l'albuminuria nei gastrectasici e descrisse vere nefriti consecutive a gastrectasia e Loeb (4) descrive parecchi casi di questa malattia associati a nefrite.

Singer (5) osservò albuminuria e cilindruria in un adulto affetto da peritiflite e la nefrite parenchimatosa con albumina, cilindri e talora con ematuria complica frequentemente il catarro gastro-enterico acuto (Fischl, Stiller) (6) specialmente nei bambini.

L'acetonuria, secondo Lorenz (7), quasi sempre associata alla diaceturia, è fenomeno usuale nei disturbi digestivi di varia natura; anche nel contenuto gastrico e nelle feci è talora contenuto l'acetone. L'acetonuria e l'albuminuria si trovano frequentemente associate (Jachs) (8) e all'acetone ed alle sostanze

---

(1) Albertoni e Stefani, *Trattato di fisiologia*, pag. 107.
(2) Albertoni, *Autointossicazioni*. Tratt. italiano, vol. I, parte 2ª, pag. 40.
(3) Lorenz, *Zeitsch. f. Klin. Med.*, 1891, Bd. XIX, pag. 19.
(4) Loeb, *Arch. f. Klin. Med.*, 1890, Bd. XLIV.
(5) Singer, *Wien. Med. Woch.*, 1887, pag. 69. Congresso di Praga.
(6) Stiller, *Wien. Med. Woch.*, 1889, n. 18.
(7) Lorenz, loc. cit.
(8) Jachs, *Zeitsch. f. Klin. Med.*, 1886, Bd. X, pag. 362.

affini vanno riferite, almeno in parte, le alterazioni renali nel diabete.

Jachs ha scoperto l'acido acetico e Klemperer [1] l'acido β ossibutirrico in ammalati affetti da carcinoma del ventricolo.

A questi e ad altri fatti clinici, altri se ne collegano di natura sperimentale.

Albertoni e Pisenti [2] somministrando dell'acetone agli animali, poterono sviluppare in essi quella nefrite acetonica che Bozzolo ammetteva e dimostrava clinicamente nell'uomo [3].

Gouget col solfocianato di ammonio ottenne delle lesioni limitate ad un piccolo numero di tubi contorti e di anse ascendenti e venne dimostrato pure che la leucina, tirosina, xantina, ecc. possono, eliminandosi, determinare delle vere nefriti (Gaucher) [4].

Presumibilmente l'assorbimento di sostanze nocive deve farsi maggiore in quegli stati in cui più lungamente l'intestino trattiene i materiali ingeriti; nella coprostasi dunque e rispettivamente nell'occlusione intestinale, che realizza, sotto questo punto di vista, le condizioni estreme dell'esperienza.

I rapporti fra la coprostasi e le autointossicazioni sono stati anche recentemente discussi ed illustrati [5]; nelle coprostasi sono frequenti l'acetonuria e l'indicanuria (Lorenz). Di più l'albuminuria e particolarmente la cilindruria sembrano in certe circostanze avere stretto rapporto colla costipazione. A questo proposito ci piace ricordare qui un interessante caso occorso nella nostra Clinica un anno fa e che fu oggetto di una lezione del prof. Bozzolo.

Si trattava di una donna di 46 anni, contadina; immune nel gentilizio e madre di 4 figli sani. Non aveva avuto malattie di rilievo, ma da circa quattro anni lamentava delle turbe nervose. Dieci mesi prima della sua entrata in Clinica aveva sof-

---

(1) Klemperer, *Berl. Klin. Woch.*, 1889, n. 40.

(2) Albertoni e Pisenti, *Arch. per le scienze mediche*, 1887, vol. XI.

(3) Congresso di Pavia, 1887.

(4) Gaucher, *Revue de Médec.*, 1888.

(5) Casciani e Fermi, *La dottrina dell' autointossicazione nella stitichezza.* (Il Policlinico, 1895, pag. 188).

ferto di scorbuto e ne era guarita, residuandone però dei disturbi intestinali caratterizzati da periodi di diarrea alternati a periodi di ostinata costipazione; negli ultimi due mesi predominava un'invincibile stitichezza; le orine da chiare ed abbondanti, si erano fatte più scarse e sedimentose; l'ammalata soffriva di forte cefalea a carattere gravativo, quasi continua.

S. P. *7 marzo 1896.* Costituzione regolare; stato di nutrizione deficiente con aspetto di una senilità precoce; non esistono edemi; nessun disturbo da parte dei sensi specifici; lingua patinosa, arrossata all'apice ed ai margini. Al torace si riscontrano i segni di un enfisema polmonare sostantivo di grado mediocre. Area del cuore in gran parte coperta; toni oscuri, profondi; nessuna accentuazione alla base. Addome teso, poco trattabile; ma non dolente. Alvo chiuso da 5 giorni. Orine di color giallo intenso; R. acida; D. 1016. Urea 23,2 °/₀₀, Albumina 0,5 °/₀₀; niente zucchero; quantità nelle 24 ore cmc. 500 — nel sedimento imponente numero di cilindri ialini e granulosi; scarsi globuli bianchi. Si prescrive dieta lattea e si praticano clisteri di acqua salata seguìti da scariche abbondanti.

8 marzo. L'orina conserva gli stessi caratteri. Albumina 0,3 °/₀₀, Urea 25 °/₀₀.

9 marzo. L'Albumina nelle orine non è più dosabile; nel sedimento sono assai meno numerosi i cilindri. Seguitando questa cura e regolarizzata opportunamente la defecazione le condizioni dell'ammalata migliorano rapidamente; nelle orine fatte normali per quantità e per costituzione scompaiono definitivamente l'albumina ed i cilindri e il 22 marzo l'ammalata esce dalla Clinica colla apparenza di una perfetta guarigione.

Per quanto sia difficile giudicare anche in questo caso dell'indole precisa della alterazione renale, il nesso di essa con l'alterata funzione dell'intestino, era, come faceva notare il Professore nella sua lezione, dei più chiari e convincenti.

Nella occlusione intestinale l'orina è diminuita; talora si stabilisce anuria e vera nefrite con fenomeni uremici. Nell'ernia strozzata vi è albuminuria finchè perdura l'ostacolo; in casi più gravi si trovano nel sedimento anche cilindri ialini e gra-

nulosi, globuli rossi ed epiteli (English [1]), Frank [2]), Klopstock [3]). Rosenbach [4]) trovò negli ammalati di occlusione intestinale e nelle diarree gravi una speciale reazione, nota appunto sotto il suo nome, che è dovuta alla presenza nell'orina di sostanze indaco formatrici. Posner [5]) ha riconosciuto che la semplice allacciatura del retto negli animali può provocare alterazioni flogistiche del rene, albuminuria, glomerulite, necrosi epiteliale, mentre si ottiene una nefrite grave con cilindruria quando si inietti pure il colibacillo nel sangue e si danneggi contemporaneamente il rene con iniezioni di alcool. Pernice [6]), che studiò sperimentalmente l'occlusione intestinale trovò che nelle occlusioni del tenue l'orina è scarsa o manca del tutto, contiene indacano, talvolta pigmenti biliari e albumina; nelle occlusioni del crasso le condizioni delle orine restarono invece quasi sempre normali. In un pregevole lavoro di Galeazzi [7]), eseguito nel laboratorio di T. Carbone, è dimostrato clinicamente e sperimentalmente che nella occlusione dell'intestino avviene l'assorbimento in circolo e l'eliminazione per le vie orinarie dei batteri intestinali; questo fatto però sarebbe subordinato ad una lesione anche leggera della parete medesima dell'intestino; le alterazioni prodottesi nei reni sarebbero dovute in gran parte ai prodotti tossici segregati dai batteri.

A questo ingente cumulo di fatti cui abbiamo voluto accennare brevemente non tanto col proposito di riandare tutta la storia del vasto e complesso argomento [8]), quanto per orientarci un momento in mezzo ad esso, può essere aggiunta, come non del tutto priva di interesse una serie di esperienze da noi praticate nelle cavie a fine di constatare:

---

(1) English, *Wiener Med. Jahrb.*, 1884.
(2) Frank, *Berl. Klin. Woch.*, 1887.
(3) Klopstock, *Ueber Albuminurie bei incarcerirten Hernien.* Würzburg, 1889.
(4) Rosenbach, *Berl. Klin. Woch.*, 1889, n. 1, 22, 23.
(5) Posner, 67ª Riunione dei Medici e Naturalisti di Germania, 1895.
(6) Pernice, *Riforma medica*, 1891, vol. III, pag. 565.
(7) Galeazzi, *Morgagni*, maggio 1893.
(8) Ved. pure Gouget, *Du rôle de l'autointoxication dans la pathogénie des néphrites.* (Gazette des Hôpitaux, 1895, n. 139-142).

1° Se l'occlusione artificiale dell'intestino producesse per se stessa alterazioni renali;

2° Quali fossero istologicamente queste alterazioni;

3° Se fossero le alterazioni medesime legate o meno all'invasione bacillare del rene e delle vie orinarie.

La stenosi e l'occlusione dell'intestino tentata sperimentalmente, ma con intendimenti diversi da Max Jaffe, da Herczel, da Busachi e da altri, si ottiene facilmente nelle cavie a patto di operare sull'intestino crasso e particolarmente sulla porzione terminale di esso. Tutte le volte che abbiamo tentato di allacciare il tenue mediante laparotomia mediana, l'animale morì rapidamente per peritonite da perforazione.

Nelle nostre esperienze abbiamo sempre praticato una obliterazione del lume dell'intestino in modo da arrestare completamente il circolo fecale. Il metodo che abbiamo seguìto è semplice e di facile esecuzione. Legato l'animale sul dorso e preparato il campo operativo, si pratica un'incisione longitudinale o alquanto obliqua in dentro e in basso nel quadrante inferiore sinistro dell'addome, procedendo per strati fino alla cavità. L'incisione dev'essere praticata in modo da permettere appena l'introduzione dell'indice della mano dell'operatore. Con questo dito introdotto nella ferita si impedisce la fuoruscita delle anse e si va alla ricerca di un tratto di intestino della grandezza uguale ad una penna d'oca, liscio e di calibro regolare che costituisce l'ultima porzione del tubo digerente nella cavia. Lo si riconosce agevolmente perchè di solito è riempito a rosario di boli fecali consistenti; lo si uncina col dito introdotto nel ventre e trattolo all'esterno lo si allaccia non troppo strettamente con un filo di seta grossa o con una striscia di garza. Ridotta infine l'ansa, si sutura la parete addominale a strati. Quando il metodo riesce esattamente e si osservano le debite cautele antisettiche, non sussegue mai peritonite e la morte dell'animale avviene dopo 3 a 6 giorni con fenomeni di sonnolenza, di collasso, vomito, enorme distensione del ventre.

Ucciso l'animale dopo un tempo variabile dall'operazione se ne praticava l'autopsia; si facevano colture dall'orina con-

tenuta in vescica, allacciando questa ed esportandola prima con norme rigorose di asepsi; dal parenchima renale ed eventualmente dal peritoneo e dal sangue. Pezzi di rene venivano posti ad indurire nei liquidi adatti; altri venivano bolliti poi passati in alcool per la ricerca istologica dell'albumina.

Tra le numerose esperienze praticate scegliamo e riportiamo qui il protocollo delle meglio riuscite, sulle quali si fondano naturalmente le deduzioni che cercheremo di trarre da queste ricerche.

Cavia A, maschio, peso grammi 470. — Si opera col metodo descritto e si uccide dopo 72 ore dall'operazione quando appaiono i primi segni di sofferenza. Considerevole distensione delle anse al di sopra del punto allacciato che trovasi a circa 10 cm. dall'estremità anale. Non vi è traccia di peritonite. Le colture dall'orina della vescica e dal parenchima renale in brodo e in agar, rimangono sterili. I reni hanno macroscopicamente aspetto normale e se ne conservano pezzi.

Cavia B, maschio, peso gr. 500. — Si opera nel modo solito e 102 ore dopo l'operazione essendo l'animale grandemente sofferente, sonnolento, con vomito verdastro e il ventre fortemente disteso, lo si uccide. Il laccio è caduto a 3 cm. sopra il retto; la porzione soprastante è ripiena di masse fecali indurite e l'ansa è ulcerata e coperta in questo punto da una essudazione peritoneale circoscritta. Non vi è peritonite generalizzata. Il cieco e il tenue sono enormemente distesi da gas. I reni si presentano congesti nella porzione corticale; anche il fegato è congesto. Le colture in agar e brodo fatte con materiale raccolto a livello dell'ulcerazione danno sviluppo a molte forme bacillari ed a cocchi ad ammassi; dal parenchima renale e dall'orina della vescica si coltiva un bacillo coi caratteri morfologici del bacterium coli. Si conservano i pezzi per l'esame istologico.

Cavia D, maschio, peso gr. 485. — Operata nel modo consueto, viene uccisa dopo 25 ore dall'operazione. Il laccio è caduto a 12 cm. dall'estremità rettale. L'intestino superiormente al laccio è mediocremente disteso. Non vi ha peritonite. Reni di aspetto normale. Le colture dai reni e dall'orina rimangono sterili. Si conservano pezzi del rene.

Cavia E, maschio, peso gr. 490. — Operata di occlusione viene uccisa circa 40 ore dopo; laccio caduto 10 cm. più in alto del retto. Nessuna traccia di peritonite. Un po' congesti i reni nella sostanza corticale. Colture dall'orina e dal parenchima renale sterili. Si conservano i reni.

Cavia F, femmina, peso gr. 465. — Operata col solito metodo viene a morire spontaneamente nella notte fra il 3° e il 4° giorno; cioè fra 60 e 66 ore dopo l'operazione. Enorme distensione dell'addome e grandissima distensione delle anse. Essudazione siero-fibrinosa sulle anse, senza per-

forazione. Laccio caduto a 3 cm. sopra l'apertura anale. Non si pratica esame batteriologico; si conservano i reni.

Cavia G, femmina, peso gr. 475. — Operata di occlusione viene uccisa 93 ore dopo l'atto operativo. Laccio caduto a 7 cm. dall'ano. Reni di aspetto normale. Notevole distensione delle anse. Nessuna traccia di peritonite. Le colture su agar-agar e in brodo con materiale tratto dal parenchima renale e dalla vescica orinaria, rimangono sterili. Si conservano i reni.

Cavia H, maschio, peso gr. 520. — Resiste singolarmente alla occlusione intestinale provocata col solito metodo. Si comporta abbastanza bene nei primi giorni e soltanto nel 6° giorno si riduce in condizioni gravissime con grave meteorismo e vomito di materia verdastra; viene allora uccisa, dopo 140 ore dall'intervento operativo. All'autopsia si trovano i reni leggermente congesti; grave distensione delle anse; poco liquido limpido nel peritoneo; peritonite circoscritta rappresentata da una essudazione siero-fibrinosa sulle anse intestinali che stanno in vicinanza del laccio stenosante; in questo punto le anse sono legate fra loro da lasse aderenze. Nella vescica distesa è contenuta orina torbida contenente abbondanti globuli bianchi. Si fanno colture in agar e brodo dal parenchima renale, dall' orina e dall'essudato peritoneale. Da quest'ultimo si sviluppano abbondanti forme coccacee di cui alcune in catene, altre a grappolo; coi caratteri colturali che ricordano lo streptococco e in altri punti lo stafilococco aureo. Dal parenchima renale e dalla vescica si sviluppano in coltura dei cocchi in catena, coi caratteri dello streptococco piogeno. Si conservano i reni.

Cavia L, maschio, peso gr. 485. — Operata nel solito modo, muore spontaneamente dopo 60 ore. Nessuna traccia di peritonite. Reni di aspetto normale. Le culture dal rene e dalla orina rimangono sterili. Si conservano i reni.

Cavia M, maschio, peso gr. 530. — Operazione consueta. Morte spontanea dopo il terzo giorno, dopo 74 ore dall'operazione. Appena morta si pratica l'autopsia. Nessuna traccia di peritonite. Reni di aspetto normale. L'esame batteriologico dà per risultato: rene destro sterile; il rene sinistro e l'orina della vescica infettano le colture in agar e in brodo di un bacillo corto e tozzo, identificabile col bacterium coli. Si conservano pezzi di rene.

Cavia N, femmina, peso gr. 500. — Si uccide dopo 3 giorni dalla solita allacciatura dell'ultima porzione dell'intestino. Nessuna traccia di peritonite. Reni di aspetto normale. Le colture fatte con orina della vescica, parenchima renale e parenchima epatico riescono negative.

Cavia O, maschio, peso gr. 510. — Operata come di solito, muore spontaneamente nella notte dal 4° al 5° giorno dall'operazione, cioè fra le 9[illegible] e le 108 ore dall'operazione. Addome tumefatto, vomito verdastro, princi pio di peritonite rappresentato da essudato siero-fibrinoso al dintorno de

laccio stenosante. Le colture fatte con questo essudato danno luogo ad una coltura impura, in cui predominano bacilli corti e tozzi, con aspetto di bacterium coli. Dal rene e dall'orina contenuta in vescica non. si sviluppano microrganismi. Si conservano i reni.

Cavia P, maschio, peso gr. 512. — Operata di occlusione viene uccisa dopo 46 ore. Laccio caduto nell'ultimo tratto dell' S iliaca. I reni all'aspetto macroscopico non presentano nulla di particolare. Anse intestinali del crasso e dell'ultima porzione del tenue notevolmente distese da feci e gas. Nessuna traccia di peritonite. Sterili le culture dal rene e dall' urina contenuta in vescica.

A proposito di ciascuna di queste esperienze abbiamo fatto tre ordini di indagini riguardanti rispettivamente: la *secrezione orinaria*, l'*istologia del rene*, l'*esame batteriologico.*

Per lo studio delle *orine* solevamo tenere l'animale operato in un'apposita gabbia il cui fondo costituito da una reticella metallica corrispondeva ad un cristallizzatore di vetro ove le orine venivano a raccogliersi. Le alterazioni trovate nelle orine furono sempre assai scarse o mancanti. La quantità è leggermente diminuita; ma è pure a notare che l'animale dopo 1 o 2 giorni rifiuta il cibo. L'albumina comparve in modo incostante, ma solo in tracce leggerissime e nei casi di maggiore durata in vita. Nelle stesse condizioni si riscontrò talora l'indacano. Dall'esame del sedimento orinario non ottenemmo risultati, malgrado che si trattenesse nel recipiente raccoglitore una soluzione di acido acetico. È noto del resto che le orine degli erbivori essendo alcaline male si prestano alla conservazione degli elementi morfologici del rene. Altre ricerche non vennero fatte.

Per quanto riguarda l' *esame istologico* questo venne praticato in tutti i reni delle cavie in esperimento e in reni di cavie normali per confronto. Come liquidi di indurimento abbiamo usato il liquido di Müller con sublimato, il liquido di Zenker, la formalina 2 $^{0}/_{0}$ e in un caso anche la soluzione di acido osmico. L'inclusione era fatta in paraffina e le sezioni erano colorate con allume carmino, litio carmino, ematossilina, combinate con colorazioni di fondo dell'acido picrico e dell'eosina. Nei casi in cui il rene parve infetto si fecero colorazioni pei microrganismi col metodo di Kühne e di Gram.

Abbiamo riscontrato nei reni delle nostre cavie evidenti alterazioni tutte le volte in cui l'occlusione dell'alvo durava da circa 3 giorni e in linea generale possiamo dire che quanto maggiormente era durato in vita l'animale, tanto più evidenti erano le alterazioni istologiche del suo rene.

Esaminati macroscopicamente questi reni non differiscono visibilmente da un rene normale; solo talvolta la sostanza corticale è un po' più oscura, congesta; non si notano striature gialle.

All'esame microscopico dei numerosi preparati che abbiamo allestito, si riscontra in tutti un fatto unico e costante, quale si è l'integrità dell'apparecchio glomerulare, combinato ad una lesione più o meno grave dell'apparecchio secernente. I nuclei del glomerulo si colorano nettamente col carminio allume, con l'ematossilina e col picrocarmino; la capsula di Bowman è libera e non si riesce neppure coi metodi speciali dell'ebollizione a dimostrarvi traccia di essudato.

Questa conservazione degli elementi del glomerulo contrasta singolarmente coi fatti degenerativi che colpiscono l'epitelio dei canalicoli circostanti; cosicchè, osservando a piccolo ingrandimento le sezioni dei reni più gravemente colpiti, impone già a prima vista, la vivace colorazione dei glomeruli in mezzo alla decolorazione del labirinto circostante.

L'epitelio dei canalicoli contorti è in ogni caso il più alterato. Queste alterazioni consistono in uno scoloramento dei nuclei e in una degenerazione del corpo cellulare. Un gran numero di nuclei non è più tingibile coi colori nucleari o si lascia tingere pallidamente da essi. In alcuni preparati si vede nel cortex corticis una quasi totale scomparsa dei nuclei, mentre questi si vanno facendo appariscenti e vivaci man mano che si procede verso la sostanza midollare. Il corpo delle cellule epiteliali presenta talora la tumefazione torbida e in questi casi il nucleo è ancora abbastanza evidente; ma per lo più il nucleo non è tingibile ed il corpo cellulare è risolto in un ammasso granuloso che in parte si stacca e riempie il lume del canalicolo. Questa degenerazione non è uniforme e diffusa a tutti i canalicoli in modo uguale, ma accanto a parti profondamente

degenerate se ne notano altre in discreto stato di conservazione. Non ci fu dato osservare nei nostri preparati nè desquamazione, nè vacuolizzazione nè degenerazione grassa dell'epitelio.

Nello stroma non si notano nè infiltrazioni cellulari, nè ipertrofie o edema del connettivo.

Nei casi in cui il rene era apparso infetto da microrganismi, non ci riuscì di dimostrarne la presenza nelle sezioni.

Per quanto riguarda gli *esami batteriologici* da noi praticati, come si è visto, le colture fatte con l'orina della vescica e col parenchima renale per lo più rimangono sterili anche quando l'animale è sacrificato tre giorni dopo l' occlusione artificiale dell'alvo. In un solo caso (*cavia M*) il rene e l' orina della vescica si trovarono infettati col batterio del coli.

Diversamente invece si comportano le cose quando l'intestino è leso profondamente (*cavia B*) o comincia a stabilirsi nel peritoneo un processo di infiammazione locale (*cavia H*). Allora nel rene e nell'orina possono riscontrarsi microrganismi. Questo fatto concorda nell'insieme coi risultati ottenuti da Galeazzi; per cui l'occlusione intestinale non determinerebbe per sè sola la batteriuria, ma questa sarebbe legata ad altre alterazioni intermedie che si stabiliscono secondariamente nella parete intestinale o nel peritoneo.

Avendo noi riscontrate le alterazioni istologiche descritte anche in casi in cui il reperto batteriologico era riuscito negativo, ci pare ovvio il dedurne che non ai microrganismi, ma alle sostanze tossiche in genere provenienti dal canal digerente, sono da riferire le alterazioni dell'epitelio renale.

Le conclusioni delle nostre ricerche possono dunque essere riassunte così:

1. L'occlusione artificiale dell'ultima porzione dell'intestino nelle cavie produce degenerazione dell' epitelio secernente del rene; l'apparecchio glomerulare resta integro.

2. Queste alterazioni devono essere considerate di indole tossica, essendo l'invasione batterica del rene e delle vie orinarie un fenomeno tardivo e secondario nello sviluppo della malattia sperimentale provocata.

Laboratorio di Farmacologia della R. Università di Catania
diretto dal prof. **A. Curci.**

SULL'AZIONE ACUTA DEL SELENIO.

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

DOTT. ORAZIO MODICA
Assistente.

Quantunque varii lavori si siano fatti sull'azione acuta del selenio, pure essa non ci è totalmente nota. Io, per consiglio del prof. *Curci*, da circa tre anni attendo allo studio di esso sull'organismo animale, ed ho già pubblicato le esperienze sull'azione cronica ([1]) e quelle sul ricambio materiale ([2]); ne pubblico ora alcune sull'azione acuta. Esse non solo serviranno come contributo alla conoscenza dell'azione di una sostanza tanto tossica, qual è il selenio, ma anche per vedere se veramente l'azione di esso è identica a quella dell'arsenico, e se per questo le due sostanze si possano porre nello stesso gruppo farmacologico, come *Czapech e Weil* vorrebbero ([3]). Il confronto tra l'azione dell'una e dell'altra sostanza sarà però oggetto di una prossima memoria, dovendo ripetere coll'arsenico molte delle esperienze fatte col selenio.

Come materiale di studio per il lavoro presente mi è servito il selenio metallico amorfo, l'acido selenioso e l'acido selenico, prodotti avuti dalla cessata fabbrica di prodotti chimici di Tromsdorff. Avevo intenzione di studiare anche

([1]) *Archivio di farmacologia e terapeutica*, 1897 e *Atti dell'Accademia Gioenia di Scienze naturali in Catania*, vol. X, serie 4ª.
([2]) *Annali di chimica e farmacologia*, 1897 e *Atti dell'Accademia Gioenia di Scienze naturali in Catania*, vol. X, serie 4ª.
([3]) *Arch. f. exper. Pathol. und Pharmak.*, Bd. 32.

l'azione dell'idrogeno seleniato e dei seleniuri alcalini, ma difficoltà tecniche me lo hanno impedito; si sa del resto che l'idrogeno seleniato è dotato di una potente azione irritante locale, e che i seleniuri alcalini si decompongono con molta facilità, mentre sono estremamente tossici. Questo fatto ho avuto anch'io occasione di vedere in alcune esperienze sulle rane, che poi non continuai, perchè le soluzioni lasciavano depositare presto del selenio metallico.

Azione del selenio metallico.

Japha (1) avendo ingerito del selenio metallico osservò su se stesso del dimagramento generale e della stitichezza. Io, invece, avendolo somministrato a rane e conigli, non ho potuto osservare alcuna modificazione apparente negli animali d'esperimento. Ho condotto nelle rane un'esperienza in questo modo.

Esperienza 1a. — Quindici animali presso a poco della stessa grossezza e pescati nello stesso giorno, furono divisi in tre gruppi di 5 ciascuno. Un gruppo *A* del peso di gr. 66.20, un gruppo *B* del peso di gr 64, un gruppo *C* del peso di gr. 60. Il gruppo *C* è stato tenuto per paragone; a ciascuna rana del gruppo *A* è stato dato del selenio metallico in polvere per lo stomaco (1/2 cg. ogni 3 giorni), a ciascuna rana del gruppo *B* invece esso è stato posto nel sacco linfatico dorsale (sempre 1/2 cg. ogni 3 giorni). Tutti e tre i gruppi furono tenuti nelle identiche condizioni di sito e di nutrimento: ogni gruppo, cioè, fu posto sotto imbuto su piatto con poca acqua, e nutrito ogni 3 giorni con uguali porzioni di carne di rana. Dopo 28 giorni le rane furono ripesate: il gruppo *A* era diminuito di gr. 0.30, il gruppo *B* di gr. 0.75, e il gruppo *C* (di paragone) di gr. 0.60. Lungo tutto il tempo dell'esperimento le rane non mostrarono alcun manifesto disturbo.

Risulta da questa esperienza, che il selenio libero nelle rane non ha prodotto alcun notevole effetto.

Uguali risultamenti ho avuto nei conigli.

Esperienza 2a. — A due conigli *A* e *B* di gr. 500 l'uno e di gr. 475 l'altro, si fece ingerire giornalmente 1 cg. di selenio metallico in polvere in mezzo alla crusca, che serviva di nutrimento. Dopo un mese d'esperi-

(1) *Experimenta nonnulla de vi selenii in org. anim.* — *Dissert.* Halle, 1842.

mento, erano aumentati in peso di circa 600 grammi ciascuno, ugualmente a un altro, *C*, tenuto nelle stesse condizioni e nutrito allo stesso modo, ma che non riceveva selenio.

Risulta quindi dai miei esperimenti, che non si può attribuire al selenio libero quell' azione che gli attribuiva *Japha*.

Azione degli acidi selenioso e selenico.

Per evitare l' azione irritante locale di questi due acidi, li ho adoperati sotto forma di sali sodici. Questi sono stati preparati neutralizzando esattamente con soda le loro soluzioni, e mettendo il tutto ad essiccare su cloruro di calcio anidro. I sali così ottenuti sono bianchi, e, conservati bene asciutti, non subiscono alcuna modificazione.

Animali d' esperimento sono stati rane, cani e conigli.

Azione generale.

Rane. — Nelle rane il selenico sodico, introdotto per iniezione sottocutanea nei sacchi linfatici, non produce alcun fenomeno notevole a dosi piccolissime, al disotto di $^1/_{10}$ di mg.; al massimo può notarsi un lieve indebolimento nei movimenti, sia spontanei, che riflessi. Ma, se si sorpassa questa dose, si osservano dei gravi fenomeni di avvelenamento. Questi però, a seconda della dose insorgono più o meno presto (da 20-30 minuti primi a 2 ore dopo l' iniezione), hanno un decorso più o meno rapido (da qualche ora, o meno, a uno o più giorni), e sono più o meno intensi. La dose media per potere bene osservare il quadro dell' avvelenamento è quella di 1-2 mg. per una rana di 10-15 gr.

Il primo fenomeno, che si osserva nelle rane è l' indebolimento dei movimenti spontanei. Questi esistono, la rana sfugge prontamente agli stimoli, cerca di nascondersi fuggendo, ma nei salti i muscoli non ubbidiscono del tutto alla volontà. La rana non può eseguire che dei piccoli salti, e nella caduta resta cogli arti posteriori un po' distesi.

Il primo fenomeno, che si osserva nelle rane non è adunque una incipiente narcosi centrale, come *Czapech* e *Weil* dicono poichè una rana che incomincia a narcotizzarsi non ha il senso

dell' orientamento come lo presentavano tutte le mie rane, nè dirige il salto verso quella parte che più le convenga sia per evitare ostacoli, sia per andare in posti reconditi, ovvero in parti da cui spera un salvamento. Era molto notevole in alcune rane questo istinto, il quale si rilevava dal fatto, che, trovandomi io ad esperimentare dietro i vetri di una finestra, dirigevano i salti costantemente verso di essi, credendo di potere andare all' aperto.

In seguito il movimento volontario si perde, la rana sta accovacciata, sdraiata sul ventre, si muove solamente se viene stimolata, il sacco ioideo si gonfia, e le sue escursioni, dapprima superficiali, si aboliscono del tutto, le pupille si restringono, nel mentre i riflessi generali e corneali persistono ancora poco indeboliti. Poi tutti questi riflessi diventano tardi, e il movimento molto debole. La rana stimolata non fa più un salto, ma muove soltanto l' arto stimolato; messa sul dorso, tenta di rivoltarsi, ma non lo può, restando in posizione laterale e cogli arti distesi. Stimolata sulla testa o sul dorso s' incurva fortemente, e resta sollevata per varii secondi sui quattro arti. Finalmente qualunque stimolo resta senza azione, la rana perde qualunque movimento, e non dà più alcun segno di vita.

Se invece di metterlo nei sacchi linfatici, il veleno si pone nello stomaco, ovvero sulla cute, il quadro dell' avvelenamento non si modifica in niente.

Gli stessi fenomeni si osservano se, invece del selenito, si adopera il seleniato di sodio; però, acciocchè essi abbiano la stessa intensità, si devono adoperare dosi 3-4 ed anche 5 volte più grandi.

Cani. — Nei cani il quadro dell' avvelenamento da me osservato corrisponde quasi in tutto a quello già visto da *Rabuteau* [1], da *Chabrié* e *Lapique* [2] e da *Czapech* e *Weil* [3]. Non faccio perciò che accennarlo a grandi tratti.

Il primo fenomeno, che si osserva nei cani dopo l'iniezione sottocutanea di pochi mg. di selenito di sodio, è il vomito. Esso

---

(1) *Gazette hebdomadaire*, 1869.
(2) *Comp. rend.*, T. 109 e 110.
(3) Loc. cit.

si ripete a brevi intervalli, ed è accompagnato in seguito da emissione di feci dapprima solide, poi liquide, puzzolenti e finalmente costituite di sierosità miste a muco. Fino a questo punto dell' avvelenamento, l' animale gira per le stanze del laboratorio, è un po' abbattuto, chiamato mostra di sentire; ma ben presto la respirazione diventa superficiale, stentata, apparisce bava alla bocca, la lingua e le mucose diventano cianotiche, aumenta l' affanno, l' animale si accovaccia, si rialza, poi si accovaccia di nuovo, non trova una posizione in cui possa stare: vi ha profonda apatia e sonnolenza. Intanto l' affanno aumenta sempre più, l' animale si alza più di rado e stentatamente, finchè i tentativi di alzarsi rimangono senza effetto, e resta accovacciato, narcotizzato, cogli occhi spesso semichiusi. Subito dopo, i riflessi generali si aboliscono, ma l' animale chiamato mostra ancora di sentire. Finalmente anche questa facoltà si abolisce, si spegne il riflesso corneale finora conservato, fuoresce dalla bocca e dalle narici una grande quantità di liquido schiumoso bianco o roseo, e la respirazione, già molto superficiale e irregolare, si arresta, nel mentre il cuore, un po' rallentato, batte ancora ritmicamente per qualche minuto dopo l' arresto della respirazione. Arrestata la respirazione, se l' avvelenamento ha avuto un decorso rapidissimo, sopravviene qualche contrazione tonico-clonica generale, e con essa la morte; ma se l' avvelenamento ha avuto un decorso lento di 2 ore o più, raramente avvengono convulsioni agoniche, e il cane si spegne insensibilmente.

Tutto il quadro dell' avvelenamento descritto si svolge in vario tempo, a seconda della dose adoperata. Può insorgere 15-20 minuti dopo l' iniezione, ed anche dopo $^1/_2$ ora, e durare da poche ore fino a qualche giorno o due, se la dose è stata piccola, ovvero da mezz' ora a un' ora o due, se la dose non è stata grande (3-4 mg. per kg. di animale). Quando l' avvelenamento ha un decorso rapidissimo, possono mancare, restando tutti gli altri fenomeni, i fatti dell' intestino, come *Czapech* e *Weil* hanno pure constatato.

Come nelle rane, anche nei cani l' acido selenico è meno tossico del selenioso; talora bastano quantità quadruple o

quintuple per averne gli effetti, tal' altra la quantità dev' essere molto più grande.

Conigli. — Nei conigli i fenomeni generali dell' avvelenamento acuto sono essenzialmente gli stessi di quelli, che abbiamo descritto nei cani, però essi risentono meno di questi ultimi l' azione deleteria dell' acido selenioso.

Gli animali stanno rincantucciati, poi gradatamente diventano affannosi, con respirazione talvolta profonda, e le mucose cianotiche. In questo momento dell' avvelenamento stanno sdraiati al suolo profondamente narcotizzati, senza riflessi e senza movimenti, non rimanendo come segno di vita che la respirazione (la quale del resto è molto superficiale), i riflessi palpebrali, molto indeboliti, ed i battiti cardiaci anch' essi indeboliti. Finalmente si aboliscono i riflessi corneali, si ferma la respirazione, ed il coniglio, cadendo di fianco, gradatamente muore. La morte talvolta è preceduta da qualche contrazione tonico-clonica generale Il cuore seguita a battere ancora qualche minuto dopo l' arresto della respirazione.

Nei conigli non ho potuto constatare la fuoruscita di schiuma dalla bocca, come si vede costantemente nei cani, i polmoni però, sia negli uni come negli altri animali, sono sempre edematosi. Da parte dell' intestino non si osserva mai diarrea, al massimo, e soltanto nell' avvelenamento prolungato, qualche emissione di feci a poltiglia.

Ugualmente che nei cani, anche nei conigli l' acido selenico è 4-5 volte meno tossico del selenioso.

Azione sugli organi della circolazione e sul sangue

Riguardo all' azione del selenio [1] sugli organi della circolazione esistono nella letteratura pochissime notizie; nessuna ne esiste riguardo all' azione sul sangue. Riferirò perciò con qualche dettaglio i risultati delle esperienze da me eseguite, specialmente perchè essi non sono totalmente conformi a quelli avuti dai precedenti sperimentatori.

---

[1] D' ora innanzi, per brevità, si dirà *selenio* invece di selenito sodico o altro composto attivo.

Azione sul sistema cardio-vascolare delle rane

Per dosi piccolissime, che non raggiungono i gr. 0,00025, è difficile notare alcun fenomeno permanente e importante sul cuore delle rane messo allo scoperto: esso può divenire un po' oscuro, ma ritmo, frequenza, forza, ecc. non vengono modificati; se però la dose raggiunge il quarto di mg., e più ancora se essa si eleva fino a 2-4 mg. dopo un tempo variabile dai 20 ai 45 minuti, secondo la dose, due fenomeni importantissimi si notano nel cuore della rana, e cioè un indebolimento della sistole e uno sfiancamento di tutto l'organo.

L'indebolimento delle contrazioni cardiache avviene gradatamente: ad avvelenamento inoltrato queste sono così deboli, che quantunque ancora numerose, restano quasi invisibili, e non se ne può percepire il tempo in cui avvengono, che per uno spostamento di tutto il cuore fortemente dilatato. Finalmente nemmeno questo fenomeno si osserva più, ed il ventricolo è fermo, nel mentre le orecchiette, già molto dilatate, seguitano ancora a pulsare per varii minuti.

Generalmente il ventricolo si ferma in diastole; ma se nelle ultime sistole arriva a fuoruscire una parte del sangue contenutovi, sangue che non vi ritorna più, perchè si accumula nelle orecchiette, esso si ferma in uno stato medio tra la sistole e la diastole, e quindi appare piccolo e quasi vuoto. Questo avviene quando l'avvelenamento ha avuto un decorso piuttosto lungo.

La frequenza dei battiti cardiaci non viene influenzata in modo notevole; quando l'avvelenamento dura a lungo, dopo 2-3 ore, può avverarsi una leggiera diminuzione del numero di essi.

Il ritmo si mantiene abbastanza regolare, talvolta, poco prima che il cuore si arresti, può osservarsi aritmia.

Più frequente dell'aritmia è invece l'apparire di alcuni punti (2-4 o più) rossi, sollevati, come capocchie di spillo, sulla superficie visibile del ventricolo, i quali sono molto visibili, mentre questo, per la contrazione sistolica, impallidisce. Quando questi punti, che possiamo chiamare di diastole permanente sono molti, il cuore assume la forma di una mora. Insieme, ovvero indipendentemente dai descritti punti di diastole, possono

vedersi delle chiazze più o meno estese, le quali restano sempre pallide, in contrazione anche quando il ventricolo è in ampia diastole. Sia l'uno, che l'altro dei due fenomeni, fa assumere al cuore una forma abbastanza irregolare.

Quando il cuore è fermo, ha sempre un colore rosso-violaceo, sia che si fermi ampiamente pieno, sia che si fermi vuoto.

Se, appena l'organo non accenna più a movimenti, si tocca con una pinza, o meglio ancora, se si stringe fra le punte di essa, si nota che si contrae soltanto nel punto toccato. Lo stesso avviene, se si stimola con una leggiera corrente indotta. Ma se si fa passare qualche minuto da che il cuore si è fermato, esso non risponde più ai più forti stimoli elettrici, mentre tuttora il sistema nervoso centrale e periferico ed i muscoli scheletrici sono perfettamente eccitabili alla corrente indotta.

In quanto al meccanismo d'azione del selenio sul cuore di rana, *Czapech e Weil* ammettono, che questa sostanza « agisca alla periferia, paralizzando quei sistemi dai quali il muscolo cardiaco riceve l'incitamento all'attività ritmica, e lasciando intatta la muscolatura dell'organo. » E tutto ciò perchè l'atropina non modifica per niente l'azione del selenio sul cuore, e perchè la digitalina e la fisostigmina sono capaci di produrre ancora forti contrazioni quando il cuore sta per arrestarsi, o si è arrestato in diastole.

Le esperienze sono state fatte sul cuore in sito.

Io ho cambiato il processo sperimentale, ed ho studiato questo meccanismo d'azione sul cuore staccato dall'organismo. Tolta a questo modo l'influenza dell'innervazione centrale, e, mantenendo nel cuore la circolazione artificiale col miscuglio nutritizio, cui è stato aggiunto del selenito di sodio, si è osservato, che l'azione del selenio sul cuore si svolge come se l'organo fosse ancora in connessione con l'organismo. All'uopo mi ha servito l'apparecchio di Williams. Il liquido nutritizio, che facevo circolare, si componeva di 4 parti di soluzione 0,75 °/₀ di NaCl e di 1 parte di sangue di bue. Per ogni c. c. di esso si aggiungeva 1 mg. di selenito sodico.

Risultava dalle mie esperienze, che l'azione del selenio nel cuore era veramente periferica. Restava perciò a determinarsi su quale parte della periferia essa si manifestasse.

Per fare ciò mi sono avvalso del suddescritto metodo sperimentale, ed ho preferito studiare ciò sul cuore isolato, perchè, dovendo eccitare l'organo colla digitalina e colla fisostigmina, ero più sicuro che queste sostanze passassero per il cuore per mezzo della circolazione artificiale, anzichè colla naturale. E dico ciò perchè, dovendo iniettare queste sostanze quando il selenio aveva già molto alterato il sistema cardio-vascolare, mi si sarebbe potuto obbiettare, nel caso che non ne avessi visto l'azione, che esse non fossero passate per il cuore, tanto più che avevo visto per alcune esperienze, che riferirò in seguito, che nelle rane, per azione del selenio, la circolazione si arresta molti minuti prima che si arrestino le pulsazioni cardiache.

Riporto qui alcune esperienze. La digitalina e la fisostigmina, come ho già accennato, si facevano agire sul cuore come il selenito sodico, per mezzo del liquido nutritizio circolante, ma talvolta si aggiungevano al liquido, in cui si teneva immerso il cuore.

Esperienza 3ª. — 14 marzo 1896. — Rana di gr. 13.

Ore	Pulsazioni in 1 minuto	Pressione in mm. Hg.	Osservazioni
11.10'	......	......	Si applica il cuore all'apparecchio di Williams.
11.12'	50	12	
11.30'	48	12	
11.31'	......	......	Si aggiunge 1 mg. di selenito sodico ad ogni c. c. di liquido nutritizio.
11.45'	48	9	
11.52'	40	8	La diastole è molto ampia.
12.2'	40	8	
12.16'	38	6	Si aggiungono 2 mg. di digitalina al liquido circol.
12.26'	35	8	
12 40'	30	8	Si sospende l'osservazione.

Esperienza 4ª. — Rana di gr. 20.

Ore	Pulsazioni in 1 minuto	Pressione in mm. Hg.	Osservazioni
11	......	......	Si applica il cuore all' appar. di Williams.
11.1'	42	15	
11.10'	38	15	
11.11'	......	......	Si aggiungono 2 mg. di selenito sodico per ogni c. c. di liquido nutritizio.
11.18'	38	14	
11.22'	38	10	Si aggiunge 1 mg. di solfato di fisostigmina al liquido circolante. Diastole ampia.
11.30'	35	15	
11.35'	28	15	Si sospende l' osservazione.

Risulta da queste due esperienze, e da altre simili che per brevità non trascrivo, che, quando la pressione sanguigna non è molto bassa, quantunque il cuore sia molto sfiancato, la digitalina e la fisostigmina manifestano su questo la loro azione, quantunque un po' indebolita.

Esperienza 5ª. — 1 aprile 1896. — Rana di gr. 15.

Ore	Pulsazioni in 1 minuto	Pressione in mm. Hg.	Osservazioni
7	......	......	Si applica il cuore all' appar. di Williams.
7.2'	52	11	
7.10'	48	11	Si aggiungono 2 mg. di selenito sodico per ogni c. c. di liquido nutritivo.
7.26'	45	10	
7.30'	42	6	La diastole è molto ampia.
7.52'	42	2	Si aggiungono 2 mg. di digitalina al liquido circolante.
7.55'	38	2	
8	38	2	Si aggiunge 1 mg. solf. di fisostigmina al liquido circolante.
8.5'	......	......	Il cuore si ferma in diastole, la pressione non si è elevata.

Esperienza 6ª. - 10 aprile 1896. — Rana di gr. 12.

Ore	Pulsazioni in 1 minuto	Pressione in mm. Hg.	Osservazioni
8	......	......	Si applica il cuore all' appar. di Williams.
8. 1′	38	12	
8. 5′	38	12	
8. 6′	......	......	Si aggiungono 2 mg. di selenito di sodio per ogni c. c. di liquido nutritizio.
8. 16′	39	10	
8. 26′	36	6	
8. 30′	38	5	La diastole è molto ampia. Le sistoli deboli.
8. 33′	38	3	
8. 40′	40	2	
8. 41′	......	......	Al liquido, in cui si tiene immerso il cuore, si aggiunge 1 mg. di solfato di fisostigmina.
8. 45′	38	2	Sistoli debolissime, appena percettibili.
8. 50′	......	......	Si aggiunge 1 mg. di digitalina al liquido, in cui si tiene immerso il cuore.
8 55′	......	......	Il cuore non pulsa più. La pressione non si è elevata.

Da queste esperienze e da altre simili risulta, che la digitalina e la fisostigmina, quando la pressione è molto bassa e il cuore si avvicina all'arresto in diastole, non sono più capaci di agire sull'organismo, sia che si facciano agire su di esso, per mezzo del liquido circolante, sia che si facciano agire per mezzo del liquido, in cui si tiene immerso il cuore. E siccome la digitalina e la fisostigmina agiscono sul muscolo cardiaco, e specialmente la fisostigmina [1], i suddetti risultati ci dicono, che esso gradatamente viene alterato dal selenio.

[1] Nota. — La digitalina parrebbe che agisse anche sul sistema nervoso cardiaco. Ved. *Archivio di farmacol. e terap.*, 1896, pag. 155.

Insieme a questa alterazione del muscolo cardiaco, si ha però la paralisi del sistema nervoso periferico del cuore. Questo ci viene dimostrato dal fatto, che la corrente indotta, applicata all'organo quando la sua muscolatura è ancora eccitabile alla corrente elettrica, vi produce delle contrazioni locali, e non generali.

In conclusione, adunque, l'azione del selenio sul cuore di rana è periferica, e si manifesta sia sul muscolo, come sul sistema nervoso. L'osservazione di *Czapech* e *Weil*, che, cioè, il muscolo cardiaco non venga interessato dal selenio, deve spiegarsi col fatto, che essi, anzichè iniettare la digitalina o la fisostigmina quando il cuore stava per fermarsi, l'iniettavano o sul principio dell'avvelenamento, ovvero anche prima che il cuore risentisse l'azione del selenio. Ciò si sospetta dal fatto, che essi stessi riferiscono, che, cioè, iniettavano precocemente queste sostanze per essere sicuri che il loro assorbimento avvenisse. È ingiustificata però la conclusione, a cui vengono dalle loro esperienze, che, cioè, la digitalina e fisostigmina sono capaci di agire sul cuore fermo in diastole per azione del selenio.

Oltre al cuore, anche il sistema vascolare delle rane viene molto a soffrire dilatandosi i capillari, e fermandosi quella molto tempo prima del cuore.

Studiavo questi fatti avvelenando le rane col selenito di sodio, e osservando da un canto il cuore messo allo scoperto, e dall'altro canto la circolazione capillare del mesentere, convenientemente preparato, ovvero quella della membrana interdigitale.

Ecco alcune esperienze:

Esperienza 7ª. — 23 maggio 1896. — Rana di gr. 18. Alle ore 14.55′ si scopre il cuore, e si dispone al microscopio il mesentere di un'ansa intestinale. Alle ore 15.10′ s'iniettano 4 mg. di selenito sodico in $^1/_2$ siringa di Pravaz d'acqua sotto la pelle della coscia destra. La circolazione capillare si arresta e ripiglia il suo corso a varii intervalli, finalmente si ferma definitivamente dopo 12 minuti dalla iniezione, mentre il cuore non si fermò che dopo 35′ dall'iniezione, rimanendo la rana tuttora eccitabile e coi suoi movimenti volontarii. Si constatò lievissima dilatazione del capillare osservato [1].

---

[1] Ciò osservavasi mercè un oculare micrometrico.

Esperienza 8ª. — 29 maggio 1896. — Rana di gr. 19. Alle 9 e 10′ si mette il cuore allo scoperto e si dispone il mesentere di un'ansa intestinale al microscopio. Si paralizza con qualche goccia di curaro. Alle 9.40′ s'iniettano 3 mg. di selenito di sodio sotto la pelle della coscia sinistra. La circolazione capillare si arrestò dopo 22 minuti, e il cuore dopo 62 minuti dall'iniezione.

Esperienza 9ª. — 30 maggio 1896. — Rana di gr. 12. Alle ore 7,15′ si mette il cuore allo scoperto, e si dispone al microscopio il mesentere di un'ansa intestinale. Si paralizza con curaro. Alle ore 8 s'iniettano 2 mg. di selenito sodico sotto la pelle della coscia destra. La circolazione capillare si arresta dopo un'ora, il cuore dopo un'ora e 15′ dall'iniezione.

Esperienza 10ª. — 22 maggio 1896. — Rana di gr. 14. Alle ore 12.50′ si mette il cuore allo scoperto, e si dispone al microscopio la membrana interdigitale dell'arto destro. Alle ore 13.5′ s'iniettano 3 mg. di selenito sodico sotto la pelle della coscia sinistra. La circolazione capillare si fermò dopo 40 minuti, ed il cuore dopo 50 minuti dall'iniezione. I capillari osservati mostrarono una lieve dilatazione.

Esperienza 11ª. — 27 maggio 1896. — Rana di gr. 16. Alle ore 8.15′ si scopre il cuore, e si dispone al microscopio la membrana interdigitale dell'arto destro. Si curarizza, e alle ore 8.32′ s'iniettano 3 mg. di selenito sodico sotto la pelle della coscia sinistra. La circolazione capillare si arrestò dopo 32 minuti, e il cuore dopo 59 minuti dall'iniezione. Il capillare osservato si dilatò un poco.

Da tutte queste esperienze si rileva, che, per azione del selenio, la circolazione capillare nelle rane si ferma molto prima del cuore (10-40 minuti), le ultime pulsazioni di questo sono quindi fisiologicamente inutili. Avviene inoltre una lieve dilatazione vascolare.

Il fermarsi precocemente della circolazione non dipende perciò soltanto dalla debolezza delle contrazioni cardiache, ma anche dalla concomitante dilatazione vascolare. Questo fatto verrà meglio illustrato allorquando ci occuperemo dell' azione del selenio sul sistema circolatorio dei mammiferi.

Azione sul sistema circolatorio degli animali a sangue caldo.

I fenomeni, che si notano nel cuore negli animali a sangue caldo (cani, conigli), non sono molto notevoli all' inizio dell' avvelenamento: frequenza, forza e ritmo delle contrazioni car-

diache non vengono molto influenzati dal selenio; ma, trascorsa mezz'ora dall'iniezione del veleno, somministrato in dosi medie, e molto prima che si paralizzi il centro respiratorio, la forza delle contrazioni e la frequenza diminuiscono notevolmente, solo il ritmo resta normale: questo diventa irregolare soltanto dopo che si è fermata la respirazione. Tutto ciò ho rilevato sia colla palpazione, sia pigliando dei tracciati sfigmografici collo sfigmoscopio di Marey nei varii periodi di avvelenamento nei cani.

Il fenomeno più notevole consiste però nel tipico comportarsi della pressione sanguigna. Riassumo a questo proposito i risultati delle mie esperienze sui cani.

La pressione del sangue, già pochi minuti da che si è manifestato il vomito, e sono incominciati i fenomeni generali dell'avvelenamento, principia ad abbassarsi. Quando l'avvelenamento decorre lentamente, in 24 ore, l'abbassamento della pressione sanguigna continua gradatamente, e senza interruzione alcuna, fino alla morte; ma quando l'avvelenamento decorre rapidissimo, in ultimo può notarsi un lieve aumento di essa pressione durante le convulsioni agoniche finali, ed eccezionalmente durante l'avvelenamento quando intervengono irrigidamenti muscolari, come ho avuto occasione di notare in due cani.

Czapech e *Weil* credono, che quest'abbassamento della pressione del sangue sia dovuto alla dilatazione dei vasi della cavità addominale, dipendente da paralisi dello splacnico. Venivano a questa conclusione per il fatto, che, aprendo la cavità peritoneale degli animali su cui sperimentavano, ed eccitando lo splacnico, non osservavano il restringimento dei vasi mesenteriali, nel mentre l'eccitazione del simpatico cervicale negli stessi animali produceva ancora impallidimento dell'orecchio dello stesso lato, ed il centro vasomotorio era eccitabile (fino agli ultimi stadii) agli stimoli elettrici riflessi.

Io, quantunque abbia fatto costantemente la sezione di tutti gli animali, che ho avvelenato col selenio, subito dopo la morte, non ho potuto vedere questa grande iperemia degli organi addominali descritta da *Czapech* e *Weil*. Questi esponevano all'aria il pacchetto intestinale dei conigli ancora viventi; la di-

latazione dei vasi mesenteriali non era quindi dovuta al selenio, ma alle condizioni anormali e sfavorevoli, su cui essi vasi e l' intestino venivano a trovarsi. In queste condizioni niente di difficile, che l' eccitazione dello splacnico rimanesse senza azione vasomotoria.

A tale metodo sperimentale non bisogna prestare fiducia alcuna, dappoichè, come già lo *Sckwarzenberg* fa osservare fin dal 1849, « l' apertura della cavità addominale e l' esposizione dell' intestino all'aria, oltre all' avere l' inevitabile conseguenza di tenere ben poco in vita l'animale, e di fare raffreddare presto gl' intestini, produce in questi una variazione del contenuto in sangue, in quanto che possono diventare iperemici, cianotici, e vi si possono produrre financo delle ecchimosi » (¹). Le accennate esperienze di *Czapech* e *Weil* non hanno quindi alcun valore: non si può concludere da esse per una dilatazione dei vasi addominali per paralisi dello splacnico dovuta al selenio.

Io ho ripetuto le suddescritte esperienze, ma mettendomi in altre condizioni sperimentali.

Per evitare l'azione dell'aria fredda sul pacchetto intestinale, io aprivo la cavità addominale in un ambiente di aria calda. Ho fatto costruire all' uopo una cassetta di latta a doppia parete lunga cm. 52, larga 26 e alta 12, e senza coperchio. In uno dei lati corti la doppia parete era sostituita da una tavoletta, che si poteva levare a volontà. Questa tavoletta era divisa per metà nel senso della lunghezza; ciascuna metà portava, distante egualmente dalle estremità, una incavatura semicircolare. Queste incavature, corrispondendosi quando le due metà della tavoletta mettevansi a posto, venivano a formare un foro circolare del diametro di 3 cm., il quale foro poteva contenere comodamente il collo di un coniglio di media grandezza, senza che la respirazione ne venisse menomamente influenzata. Esso in tal modo non solo serviva da apparecchio di contensione della testa dell' animale, ma permetteva anche che questo venisse a respirare l'aria ambiente, e non l'aria calda della cassetta.

(¹) *Die peristaltische Bewegung des Dundarms.* (*Zeitschr. f. ration. Med.*, Bd. 7, pag. 311).

L'animale veniva legato ad una tavoletta comune da contensione colla testa libera, in modo che il collo potesse venire adattato al foro suddetto, e posto dentro l'apparecchio. In questo stava un termometro, e poi tutto ciò che poteva occorrere per l'esperienza: soluzioni, bacchette, pennelli, ecc., per avere tutto pronto alla temperatura dell'animale.

Quando l'animale era a posto, la cassetta veniva chiusa dalla parte superiore con due lastre di vetro mobili in tutti i sensi, in modo che potevansi introdurre le mani, gli istrumenti, l'eccitatore elettrico, ecc., scostandone una in un dato senso, ovvero inclinandola un poco sul piano orizzontale, e praticare così comodamente tutte le operazioni occorrenti.

La temperatura interna dell'apparecchio si teneva sempre fra i 38°-40°, e si regolava con una lampada a gas posta sotto di esso.

L'ambiente interno della cassetta intanto si teneva umido mercè dell'acqua, che evaporava da un piatto. In tal modo si impediva, per quanto era possibile, il disseccamento dell'intestino. Non essendo però questo mezzo del tutto sufficiente allo scopo, dovevo di tanto in tanto umettare quest'organo, per mezzo di un finissimo pennello, con una soluzione di cloruro di sodio 0,60 °/₀ alla temperatura dell'animale.

Il maggiore inconveniente consisteva nell'appannarsi delle lastre di vetro, che servivano da coperchio, il che impediva che si potesse ben vedere quello che succedeva nell'interno della cassetta. Si poteva ovviare a questo inconveniente, tenendo calde le dette lastre col farvi spesso passeggiare con molta accuratezza la punta di una fiamma a gas. Questa manovra, fatta bene, non faceva variare in modo apprezzabile la temperatura interna della cassetta.

Con questa disposizione sperimentale la cavità addominale dell'animale in esperimento aprivasi in un ambiente molto umido, e alla temperatura di 38°-40°, condizioni sufficienti perchè nè i movimenti dell'intestino, nè il contenuto in sangue di questo, nè l'eccitabilità venissero di molto influenzati dal contatto dell'aria.

L'apparecchio da me fatto costruire era per due ragioni

superiore a quelli finora usati: 1° perchè permetteva che l'animale respirasse l'aria ambiente, e non quella calda dell'interno della cassetta; 2° perchè colla descritta mobilità del coperchio si evitavano le aperture alle pareti laterali dell'apparecchio (per introdurre le mani, ecc.), aperture dalle quali era più immediata la penetrazione dell'aria ambiente esterna, e il contatto di essa col pacchetto intestinale.

Descritto così l' apparecchio, ecco per sommi capi alcune delle esperienze, che ho fatto con esso.

Esperienza 12ª. — 5 febbraio 1895. — Alle ore

9.30'. — Si colloca un coniglio di gr. 1930 nell'apparecchio.

9.45'. — Essendo la temperatura interna della cassetta di 39°.2, si apre la cavità addominale con un lungo taglio nella linea alba, e s'iniettano sotto la pelle del collo 8 mg. di selenito sodico in 8 c. c. d'acqua distillata.

10.30'. — Non notandosi fenomeni notevoli da parte dell'intestino, s'iniettano sotto la pelle del collo altri 8 mg. di selenito sodico, e si prepara lo splacnico sinistro.

11.2'. — L'intestino tenue accentua un po'i suoi movimenti peristaltici, il contenuto in sangue non si modifica. L'eccitazione elettrica dello splacnico produce chiaro impallidimento dell'organo.

11.20'. — L'intestino è un po' iperemico. L'eccitazione dello splacnico vi produce il solito impallidimento.

11.35'. — Stesso stato. Il coniglio è sonnolento. L'eccitazione dello splacnico produce impallidimento dell'intestino, ma meno accentuato di prima. L'eccitazione del simpatico cervicale sinistro, messo allo scoperto, non produce perfetto impallidimento dell'orecchio dello stesso lato.

11.50'. — Morte dell'animale per arresto della respirazione.

Esperienza 13ª. — 10 febbraio 1895. — Coniglio di gr. 1100. Stessa disposizione dell'esperienza precedente.

8.35'. — Si apre la cavità addominale alla temperatura di 38°.8, e si iniettano 10 mg. di selenito sodico sotto la pelle del dorso.

9.10'. — Iniezione di altri 4 mg. di selenito sodico.

9.40'. — L'eccitazione elettrica dello splacnico sinistro produce impallidimento dell'intestino.

9.55'. — Stesso effetto eccitando lo splacnico. Si prepara il simpatico cervicale destro. La sua eccitazione produce impallidimento dei vasi dell'orecchio dello stesso lato.

10.32'. — L'animale è molto sonnolento e paralizzato. L'intestino un po'iperemico. L'eccitazione dello splacnico produce ancora restringiment dei vasi mesenteriali.

10.50'. — L'eccitazione dello splacnico non produce restringimento dei vasi mesenteriali, l'eccitazione del simpatico cervicale sinistro non fa restringere i vasi dell'orecchio dello stesso lato. Dopo qualche minuto segue la morte dell'animale.

Esperienza 14ª. — 15 marzo 1895. — Coniglio di gr. 1230. Stesso procedimento sperimentale delle esperienze precedenti.

13.5'. — Si apre ampiamente la cavità addominale alla temperatura di 39°.2, e s'iniettano 20 mg. di selenito di sodio sotto la pelle della coscia sinistra. Si preparano gli splacnici e il simpatico cervicale sinistro.

14. — L'eccitazione elettrica degli splacnici e del simpatico cervicale sinistro producono rispettivamente restringimento dei vasi mesenteriali, e auricolari (a sinistra).

14.20'. — L'animale è paralizzato, sonnolento. L'eccitazione degli splacnici e del simpatico cervicale come sopra. L'intestino mostrasi un po' iperemico.

14.30'. — L'animale muore improvvisamente.

Da queste esperienze si rileva come fino a pochi minuti prima della morte dell'animale, gli splacnici rispondono all'eccitazione elettrica con il normale restringimento dei vasi dell'intestino, allo stesso modo come vi risponde l'eccitazione dei simpatici cervicali per i vasi dell'orecchio. Gli effetti dell'eccitazione dello splacnico riguardo ai vasi intestinali diminuiscono un po' col progredire dell'avvelenamento, ma allo stesso modo diminuiscono gli effetti dell'eccitazione del simpatico cervicale riguardo ai vasi dell'orecchio. E quindi la diminuzione della pressione, che si nota nell'avvelenamento per selenio, non dipende soltanto dalla paralisi dello splacnico, come *Czapech* e *Weil* dicono.

Io quindi ho fatto le comuni esperienze sulla eccitabilità del sistema nervoso vasomotorio, per vedere se veramente esso rimane intatto fino alla morte dell'animale. L'eccitazione si faceva sia colla corrente elettrica, sia con l'iniezione endovenosa di sali di sodio.

Per brevità riporto qui soltanto quattro esperienze, quelle i cui risultati sono stati più netti.

Esperienza 15ª. — 7 luglio 1896. — Cagna del peso di kg. 4.900. Monometro con sfigmoscopio alla carotide sinistra.

Ore	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
11	180	Iniezione di 40 mg. di selenito sodico sotto la pelle del dorso.
11.1′	......	
11.20′	180	
11.25′	180	
11.30′	150	
11.31′	**210**	Per eccitazione dello sciatico destro.
11.40′	130	
11.42′	**190**	Idem.
11.56′	120	
12	105	Coagulo. Si rimuove.
12.20′	80	
12.26′	70	
12.27′	**90**	Per eccitazione dello sciatico sinistro.
		Si sospende l' osservazione.

Esperienza 16ª. — 9 luglio 1896. — Cane da pastore di kg. 7.200. Monometro alla carotide sinistra.

Ore	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
14.45′	160	Iniezioni di 40 mg. di selenito sodico sotto la pelle del dorso.
15	......	
15.10′	170	
15.16′	150	
15.17′	**220**	Per eccitazione dello sciatico destro.
15.20′	150	
15.30′	150	Coagulo. Si rimuove.
15.36′	**190**	Per eccitazione dello sciatico destro.
15.40′	130	
16	**160**	Idem idem sinistro.
16.20′	100	
16.21′	**120**	Idem idem idem
		Si sospende l' osservazione.

Si rileva dalle due suesposte esperienze, che se, quando la pressione sanguigna ha accennato ad abbassarsi, si stimola il

moncone centrale dello sciatico, si nota nei conigli un aumento di essa pressione. Però col progredire dell'avvelenamento, l'eccitazione elettrica dello sciatico non dà più quegli aumenti di pressione, che si notano a principio dell'esperimento. Questo risultato non si deve attribuire ad esaurimento del nervo stimolato varie volte, dappoichè osservasi lo stesso comportamento dell'elevarsi della pressione sanguigna eccitando in ultimo l'altro sciatico, rimasto finora intatto. Se però l'avvelenamento ha un decorso tumultuoso, non può notarsi questo tipico e regolare comportamento della pressione del sangue verso lo stimolo degli sciatici.

Identici risultamenti si hanno, se si stimola il sistema nervoso vasomotorio coi sali di sodio. Ecco due esperienze:

Esperienza 17ª. — 12 luglio 1896. — Cane di kg. 6. Manometro alla carotide sinistra.

Ore	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
13	150	Iniezione sottocut. di 50 mg. di selenito sodico.
13.10′	150	
13.12′	......	Coagulo. Si rimuove.
13.20′	150	
13.22′	130	Iniezione nella giugulare di 1 gr. di carb. sodico.
13.30′	**150**	
13.50′	140	
14	120	
14.12′	90	Idem.
14.19′	**105**	
14.40′	80	
14.45′	60	Idem.
14.50′	65	
14.59′	......	Morte dell'animale.

Esperienza 18ª. — 5 luglio 1896. — Cane di kg. 8. Monometro alla carotide sinistra.

Ore	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
9	145	Iniez. ipod. di mg. 60 di selenito sodico.
9.30'	120	
9.50'	105	Iniez. nella giugulare di gr. 1,20 di carb. sodico.
9.59'	130	
10.6'	110	
11	110	Coagulo. Si rimuove.
11.10'	90	Iniez. di 1 gr. di carbonato sodico.
11.15'	95	
11.17'	......	Morte dell' animale per arresto della respirazione.

Si rileva da queste due esperienze, esposte per sommi capi, che il carbonato sodico è capace di fare innalzare nei coni la pressione abbassata per azione del selenio. Col progredire dell'avvelenamento, però, il sale sodico non produce che lievi aumenti di essa pressione. Ora, siccome per gli studii del professore *Curci* [1], è noto che il sodio fa innalzare la pressione sanguigna eccitando il sistema nervoso vasomotorio, è chiaro come il selenio abbia alterato questo, dal momento che il sale di sodio non vi ha potuto spiegare intieramente e fino all'ultimo la sua azione.

Forse anche il sistema muscolare cardiaco e vasale viene alterato dal selenio, analogamente a quanto avviene nelle rane.

Non è adunque vero quanto affermano *Czapech* e *Weil*, che, cioè, nell'avvelenamento per selenio il sistema nervoso vasomo

---

[1] *Alcune ricerche sul meccanismo d' azione dei comuni metalli alcalini e alcalino-terrosi.* (*Annali di chir. e farmacol.*, serie IV, vol. III, 1886).

torio resti intatto fino alla morte. Dalle mie esperienze risulta, che esso va mano a mano paralizzandosi, e che a questa paralisi devesi l'abbassamento della pressione del sangue. Certamente un po' d'influenza su questi fatti l'avrà anche la diminuzione della forza delle contrazioni cardiache.

Azione sul sangue.

Ho già pubblicato in altro lavoro (1) le modificazioni, che induce nel sangue il selenito sodico nell'avvelenamento cronico. In questo lavoro mi occupo delle modificazioni, che vi produce nell'avvelenamento acuto.

Czapech e *Weil* non hanno notato nel sangue alcuna alterazione; *Rabuteau* (2) vi avrebbe trovato dei cristalli speciali, che, secondo lui, erano la causa diretta dell'asfissia degli animali.

Sono stato indotto a studiare il sangue dell'avvelenamento acuto col selenio, dalla osservazione di un fenomeno che è caduto sotto ai miei occhi, studiando al microscopio la circolazione capillare del mesentere delle rane. Ho visto allora come, poco dopo l'iniezione del selenio, in mezzo al sangue normalmente colorato, esistessero delle zolle di globuli rossi perfettamente decolorati.

Occupandomi delle alterazioni, che subisce il sangue nell'avvelenamento acuto per selenio, ho studiato la sua riduzione sia spontanea che provocata, l'isotonia e le variazioni del numero dei globuli rossi, nonchè della quantità dell'emoglobina.

1°. — Azione dell'acido selenioso sulla riduzione del sangue.

Per studiare la riduzione spontanea o provocata del sangue, sotto l'influenza dell'acido selenioso, facevo una soluzione titolata di sangue in acqua distillata e bollita, e per le osservazioni

(1) *Azione cronica del selenio.* (*Arch. di farmacol. e terap.*, 1897, e *Atti dell'Accad. Gioen. di Scienze natur. in Catania*, vol. X, serie 4ª).

(2) Loc. cit.

spettroscopiche adoperavo dei tubetti, lavati prima all'acido cloridrico, e poi all'acqua distillata e sterilizzata.

La soluzione del sangue si faceva sempre con sangue defibrinato, e nella proporzione di 10 gocce di sangue per 30 c. c. di acqua. La soluzione si distribuiva nei suddetti tubetti, che avevano il diametro di 7-8 mm., in modo che ognuno ne contenesse 4 c. c., e, fatte le operazioni dovute, si facevano le osservazioni spettroscopiche a varii intervalli.

Si sono fatte due serie di esperimenti. In una prima serie il selenito di sodio si è fatto agire sul sangue fuori dell'organismo; in una seconda serie si è fatto agire sul sangue circolante.

1ª Serie. — Il selenio si fa agire sul sangue estratto dall'organismo. — Preparate 10 provettine della soluzione di sangue, due di queste si lasciavano in bianco, alle altre otto si aggiungevano dosi progressivamente crescenti di selenito sodico in soluzione, si agitava, capovolgendo due volte la provetta chiusa col polpastrello del dito sempre ben pulito, e si esponevano all'aria ambiente. Ecco alcune esperienze.

Esperienza 19ª. — 2 giugno 1896. — Sangue di vitella preso al macello da 24 ore. La soluzione normale si riduce spontaneamente dopo 36 ore. Le soluzioni contenenti da 1 a 4 mg. di selenito sodico si riducono quasi tutte dopo 72 ore, quelle che ne contengono 5-8 mg. dopo 96 ore, e quelle che ne contengono 1-5 cg. dopo 152 ore. È da notare, che la soluziono di sangue contenente il selenio, riducendosi, non mostra una stria ben netta (dell'emoglobina ridotta), come la mostra il sangue delle provettine in bianco, ma piuttosto un'ombra, nel mentre tutto lo spettro mostrasi un po' oscuro.

Dopo 171 ore ho agitato all'aria, e per tempi uguali, il contenuto di ciascuna provetta. Mentre la soluzione sanguigna normale acquista ancora ben chiare le due strie dell' ossiemoglobina, le quali dopo un' ora vengono sostituite dalla stria dell'emogloblina ridotta, il sangue col selenio acquista invece due strie molto sbiadite al posto di quelle dell'emoglobina ossigenata, le quali non scompariscono che dopo 3-7 ore, secondo che è piccola o grande la quantità di selenio.

Esperienza 20ª. — 4 giugno 1896. — Sangue di vitella preso al macello da 3 ore.

Si riduce spontaneamente dopo 20ʰ,15′. Quello contenente 1-3 mg. di selenito di sodio dopo 37 ore, quello che ne contiene 1-5 cg. dopo 59-79 ore, a seconda della dose. È da fare le stesse osservazioni fatte nell'espe-

rienza precedente, in quanto alla chiarezza delle strie d'assorbimento e dello spettro.

Dopo 79 ore, in seguito ad agitazione all'aria, il sangue normale acquista le due strie d'assorbimento dell'ossiemoglobina, e si riduce dopo 2 ore e 10′, mentre quello contenente il selenio acquista due strie molto sbiadite, le quali si vedono ancora immodificate dopo 4 ore.

Esperienza 21ª. — 8 giugno 1896. — Sangue di vitella preso da un'ora al macello.

Il normale si riduce dopo 25 ore. Quello contenente 1-5 mg. di selenito sodico dopo 39-50 ore, a seconda della dose; quello che ne contiene dosi maggiori dopo 62 ore mostra ancora le due strie dell'ossiemoglobina quantunque sbiadite.

Dopo 96 ore agitato all'aria per tempi uguali, il sangue normale acquista le due strie d'assorbimento dell'ossiemoglobina, che scompariscono poi dopo 1^h e 50′, mentre quello col selenio acquista due strie molto sbiadite, ma che non sono scomparse ancora dopo 5 ore.

Da queste esperienze si deduce, che il sangue con l'aggiunta del selenito di sodio si riduce difficilmente, ossia prova una certa difficoltà, un ritardo, a ridursi, a disossidarsi; e per di più subisce delle alterazioni, in quanto che, agitato all'aria non si ossida più così bene come il normale.

Come bisogna interpretare questo ritardo nella disossidazione? Esso, o dipende dal fatto che l'ossigeno del sangue resti più tenacemente fissato ai globuli rossi, ovvero che nuovo ossigeno venga mano a mano fornito dal selenito sodico, in cui dovrebbe ammettersi una riduzione; ed in ciò niente di sorprendente: si sa che un selenito alcalino si decompone facilmente in presenza di sostanza organica, mettendosi in libertà del selenio metallico e dell'ossigeno. Io credo però più probabile, che nel nostro caso avvengano nel sangue delle modificazioni tali, per cui l'ossigeno resti più tenacemente fissato ai globuli rossi: non saprei altrimenti spiegare il perchè, agitando all'aria il sangue cui da varî giorni si è aggiunto il selenito sodico, quando cioè è da presumere che questo si sia tutto decomposto, si osservi pure un ritardo nella sua riduzione.

Col sangue, che mi ha servito per le esperienze precedenti, ho fatto altre esperienze per studiare il suo comportamento verso il solfidrato ammonico, e verso il nitrito sodico.

La soluzione di solfidrato ammonico era fatta in modo che due gocce di essa riducessero 4 c. c. della soluzione di sangue in circa 20 minuti; la soluzione di nitrito sodico, nelle stesse proporzioni della precedente, faceva scomparire le due strie dell'ossiemoglobina in circa 8 minuti.

In questa esperienze non potei adoperare forti dosi di selenito di sodio, perchè, in questi casi, l'aggiunta del solfidrato ammonico dopo qualche tempo (20'-40') produceva nella soluzione di sangue un forte intorbidamento, che non lasciava più distinguere lo spettro. Le dosi di selenito adoperate non potevano superare i 3 mg. per ogni provetta.

Il metodo sperimentale seguito era il seguente: fatta la soluzione di sangue nelle proporzioni descritte, preparavo 12 provette da saggio, in ciascuna delle quali ponevo 4 c. c. di essa. Dei 12 tubi da saggio, 6 servivano per l'aggiunta del solfidrato ammonico, e 6 per l'aggiunta del nitrito di sodio. Di ciascun gruppo di 6 poi, 3 erano con selenito sodico, e 3 in bianco per paragone.

Esperienza 22ª. — 2 giugno 1896. — Stesso sangue servito per l'esperienza 19ª. Due gocce della soluzione di solfidrato ammonico riducono il sangue normale in 23-25 minuti, e quello col selenio in 35-40 minuti.

Due gocce della soluzione di nitrito sodico fanno scomparire le due strie dell'ossiemoglobina dopo 6-7 minuti nel sangue normale, dopo 4-5 in quello col selenio.

Esperienza 23ª. — 4 giugno 1896. — Stesso sangue servito per l'esperienza 20ª. Due gocce di solfidrato ammonico riducono il sangue normale in 15-22 minuti, e il sangue col selenio in 29-33 minuti.

Due gocce della soluzione di nitrito di sodio fanno scomparire le due strie dell'ossiemoglobina dopo 10 minuti nel sangue normale, dopo 5-7 in quello col selenio.

Esperienza, 24ª. — 8 giugno 1896. — Stesso sangue servito per l'esperienza 21ª. Due gocce della soluzione di solfidrato ammonico riducono il sangue normale in 33 minuti, e quello col selenio in 40-42 minuti.

Due gocce di nitrito sodico fanno scomparire le due strie dell'ossiemoglobina in 8 minuti nel sangue normale, in 3-4 in quello col selenio.

Da tutte le esperienze di questa 1ª serie, risulta che il selenito sodico aggiunto ad una soluzione di sangue:

1° ne ritarda la riduzione spontanea, nonchè quella provocata dal solfidrato ammonico;

2° ne altera la composizione, sia perchè il sangue agitato all'aria non è più capace di ossidarsi così bene come il normale, sia perchè si lascia più facilmente decomporre dal nitrito sodico.

2ª *Serie. — Il selenio si fa agire sul sangue circolante.* — Le stesse esperienze, che ho fatto sul sangue cui veniva aggiunto del selenito di sodio, sono state fatte sul sangue degli animali avvelenati con questa sostanza.

Animali d'esperimento sono stati cani e conigli. Il metodo sperimentale seguìto per lo studio della riduzione del sangue, è stato quello delle esperienze precedenti.

Esperienza 25ª. — 27 giugno 1896. — Coniglio grigio di gr. 1010. Alle ore 14.55 si estraggono dalla giugulare 5 c.c. di sangue, il quale viene defibrinato. Se ne fa la solita soluzione, e subito le osservazioni che saranno più sotto riferite. Intanto s'iniettano a varie riprese, dalle ore 15 alle 16.15, 14 mg. di selenito sodico sotto la pelle del dorso. Appena l'animale muore, se ne estrae il sangue contenuto nel cuore mercè un taglio trasversale, si agita con bacchetta di vetro per defibrinarlo, e se ne fa la solita soluzione.

Si osserva, che tanto il sangue estratto dalla giugulare prima dell'avvelenamento, tanto quello estratto dal cuore dopo la morte, si riducono in capo a 19 ore e 35 minuti, nel mentre il solfidrato ammonico riduce il primo in 12–14 minuti, e il secondo in 28–29 minuti, ed il nitrito sodico fa scomparire le strie d'assorbimento dell'ossiemoglobina nel primo in 5–6 minuti, e nel secondo in 2 $^1/_2$–3 minuti.

Esperienza 26ª. — 30 giugno 1896. — Coniglio di gr. 1090. Alle ore 15.15 si estraggono 4 c.c. di sangue dalla giugulare e se ne fa la solita soluzione. Alle ore 15.32 s'iniettano sotto la pelle del dorso 8 mg. di selenito sodico, e intanto nel sangue estratto si fanno le osservazioni sotto indicate. Morte alle ore 20. Si estrae il sangue dal cuore.

Sia il sangue estratto dalla giugulare, sia quello estratto dal cuore, si trovano ridotti la mattina del 1° luglio. Il solfidrato ammonico riduce il sangue normale in 20', e quello estratto dopo l'avvelenamento in 30'; il nitrito sodico fa scomparire le strie dell'ossiemoglobina nel primo in 7' e nel secondo in 1'.30''. Ripetute le esperienze l'indomani si sono avuti gli stessi risultati.

Esperienza 27ª. — 3 luglio 1896. — Coniglio di gr. 1160. Si avvelena con 2 cg. di selenito sodico. Muore dopo 1 ora dall'iniezione del selenio.

Il sangue estratto dalla giugulare prima dell' avvelenamento si riduce spontaneamente in 20 ore, quello estratto dal cuore dopo la morte, si riduce invece in 26 ore. Il solfidrato ammonico riduce il primo in 26',

e il secondo in 30'. Il nitrito sodico fa scomparire le strie dell'ossiemoglobina nel primo dopo 4'.30'', e nel secondo dopo 1'.45''.

Esperienza 28ª. — 26 giugno 1896. — Cane di kg. 7 servito per le esperienze sulla circolazione. Muore dopo 2 ore dall'iniezione di 40 mg. di selenito sodico sotto la pelle del dorso.

Il sangue estratto dalla carotide prima della somministrazione del veleno si riduce spontaneamente in 28 ore, quello estratto dal cuore dopo la morte dopo 30 ore mostrava ancora le due strie dell'ossiemoglobina sbiadite. Col solfidrato ammonico, il primo si riduce in 18'-19', il secondo in 30'-32'; col nitrito sodico, nel primo le strie dell'ossiemoglobina scompaiono dopo 5'-7', e nel secondo dopo 1'.15''-2'.

Esperienza 29ª. 28 giugno 1896. — Cane di kg. 6 servito per lo studio del selenio sulla circolazione. Si avvelena con 3 cg. di selenito sodico per iniez. ipod., dopo avere estratto dalla carotide sinistra 5 c.c. di sangue. Morte dopo 1 ora e 5' dall'iniezione. Si estrae il sangue dal cuore.

Il solfidrato ammonico riduce il sangue estratto dalla giugulare in 18'-19', e quello estratto dal cuore in 26'-28; il nitrito sodico fa scomparire le strie dell'ossiemogloblina nel primo in 7'-9'.30'', nel secondo in 1'.30''-2'. Il sangue normale e quello avvelenato si trovano ridotti spontaneamente la mattina seguente.

I risultati di queste esperienze confermano adunque quelli avuti nelle esperienze, in cui il selenito sodico veniva aggiunto al sangue estratto dall' organismo, colla differenza che in quest' ultimo caso è molto più manifesto il ritardo alla riduzione spontanea.

2° Azione dell' acido selenioso sulla isotonia.

Per la valutazione dell' isotonia ho adoperato il metodo di *Hamburger*, un po' modificato (¹). Ho preparato 16 soluzioni di cloruro di sodio da 0,30; 0,32; 0,34; ecc. °/₀ fino a 0,60 °/₀. Disponevo in 16 provettine del diametro di 7-8 mm. 1 c. c. di ciascuna soluzione, e vi facevo cadere per ognuna 20 mm. c. di sangue. Questo veniva misurato colla pipetta dell' emoglobinometro di Gowers. Facevo un' osservazione immediata, secondo il metodo di *Mosso*, segnando la prima provetta in cui non si discioglieva il sangue immediatamente, e perciò la prima pro-

(¹) *Arch. f. Physiol.*, 1886, pag. 476, e 1887, pag. 31.

vetta che rimaneva torbida ([1]), ed un'osservazione dopo 24 ore, segnando la prima provetta che rimaneva perfettamente incolora.

Ecco alcune esperienze:

Esperienza 30ª. — Stesso sangue (defibrinato) dal coniglio dell'esp. 25ª (27 giugno 1896).

Sangue estratto dalla giugulare prima della somministrazione del selenio; isotonia: osservaz. immediata 40, dopo 24 ore 42.

Sangue estratto dal cuore dopo la morte, isotonia: osserv. immediata 40, dopo 24 ore 54.

Esperienza 31ª. — Stesso sangue (defibrinato) del coniglio dell'esp. 26ª.

Sangue normale, isotonia: osserv. immediata 40, dopo 24 ore 40
» seleniato ([2]) » » » 46, » 24 » 48

Esperienza 32ª. — Stesso sangue (defibrinato) del coniglio dell'esp. 27ª.

Sangne normale, isotonia: osserv. immediata 36, dopo 24 ore 42
» seleniato, » » » 40, » » » 50

Esperienza 33ª. — Stesso sangue (defibrinato) del cane dell'esp. 28ª.

Sangue normale, istonia: osserv. immediata 34
» seleniato » » » 38

Non si sono fatte le osservazioni dopo 24 ore.

Esperienza 34ª. — Stesso sangue (defibrinato) del cane dell'esp. 29ª.

Sangue normale, isotnoia: osserv. immediata 38, dopo 24 ore 50
» seleniato, » » » 42 » » » 56

Esperienza 35ª. — Sangue di cane avvelenato con l'iniezione sottocutanea di 40 mg. di selenito sodico. Morte dopo 3 ore e 11'.

Sangue normale, isotonia: osserv. immediata 36, dopo 24 ore 46
» seleniato » » » 40 » » » 52

Esperienza 36ª. — Sangue di cane avvelenato con l'iniezione sottocutanea di 60 mg. di selenito sodico. Morte dopo 2 ore.

Sangue normale, isotonia: osserv. immediata 38, dopo 24 ore 50
» seleniato; » » » 42 » « « 58

([1]) *Rendic. dell' Accad. dei Lincei*, seduta 3 aprile 1887.
([2]) Sarà detto così il sangue estratto dall' animale morto col selenio.

Le stesse osservazioni, che sono state fatte sul sangue degli animali avvelenati col selenio e che morivano dopo poche ore dalla somministrazione della sostanza, sono state fatte sul sangue degli animali che soccombevano dopo varii giorni di avvelenamento.

Il sangue veniva preso colla pipetta dall' emofobinometro di Gowers dai vasi dell'orecchio.

Ecco due esperienze:

Esperienza 37ª. — 28 giugno-13 luglio 1896. — Coniglio di gr. 1300.

Data	Peso in gr.	Selenito sodico somministrato per iniezione sottocutanea in gr.	Isotonia		Osservazioni
			Osserv. imm.	Dopo 24 ore	
28 Giugno 1896	1300	0	38	46	
1 Luglio »	.....	0	36	46	
2 » »	1290	0.0005	......	......	Si comincia la somministrazione del selenio.
3 » »	......	»			
4 » »	......	»			
5 » »	1250	0.001	40	52	Il coniglio mangia meno di prima, è debole, si sporca la coda.
6 » »	......	»			
7 » »	......	0.0015			
8 » »	......	»			
9 » »	......	0.002			
10 » »	1100	»	40	52	
11 » »	......	»			
12 » »	......	0 0025	42	56	
13 » »	......	......	......	......	Si trova morto.

Esperienza 38ª. — 29 giugno-25 luglio 1896. — Coniglio di gr. 1290.

Data	Peso in gr.	Selenito sodico somministrato per bocca	Isotonia		Osservazioni
			Osserv. imm.	Dopo 24 ore	
29 Giugno 1896	1290	0	32	40	
1 Luglio »	.....	0	32	42	
2 » »	.....	0.0005	......	......	Si comincia la somministrazione del veleno.
3 » »	.....	»			
4 » »	......	»			
5 » »	......	0.001			
6 » »	......	»	36	48	
7 » »	......	0.0015			
8 » »	......	»			
9 » »	......	0.002			
10 » »	1270	»	36	56	
11 » »	......	»			
12 » »	......	0.0025			
13 » »	......	riposo			
14 » »	1240	0.003	38	56	
15 » »	......	0.004			
16 » »	......	»			
17 » »	......	»			
18 » »	1200	»	40	58	Il coniglio è apatico, debole, rifiuta il cibo, ha piaghe alla regione delle calcagna, il pelo arruffato.
19 » »	......	»			
20 » »	......	0.006			
21 » »	......	»			
22 » »	......	»			
23 » »	1065	»			
24 » »	......	»			
25 » »	......	....	40	58	Si trova morto.

Da tutte queste esperienze si può concludere adunque, che sotto l'azione del selenito di sodio, sia che questo uccida in poche ore, o dopo alcuni giorni, il sangue del cane o del coniglio si disfà più facilmente nelle soluzioni di cloruro sodico: il grado isotonico di queste aumenta notevolmente, specialmente nelle osservazioni dopo 24 ore.

3° Azione del selenio sulla quantità dell'emoglobina e sul numero dei globuli rossi del sangue.

Studiando nei cani e nei conigli la forma dell'avvelenamento per acido selenioso, ho fatto delle osservazioni sulle variazioni del numero dei globuli rossi del sangue e della quan-

tità dell'emoglobina; però ho dovuto constatare, che questi elementi non venivano alterati nella loro quantità nell' avvelenamento che durava poche ore. Per brevità quindi non trascrivo le esperienze.

Ma nell' avvelenamento subacuto, allo stesso modo che in quello molto prolungato [1], sia il numero dei globuli rossi, sia la quantità dell' emoglobina vengono ad essere notevolmente alterati.

Esperienza 39ª. — Stesso coniglio dell'esp. 37ª.

Data	Selenito somministrato in gr.	Grado dell' emometro di Fleisch	Globuli rossi in 1 mm. c.
28 Giugno 1896	0	75	6.300.000
1 Luglio »	0	75	6.000.000
2 » »	0.0005		
3 » »	»		
4 » »	»	75	5.800.000
5 » »	0.001		
6 » »	»		
7 » »	0.0015	65	4.020.000
8 » »	»		
9 » »	0.002		
10 » »	»		
11 » »	»		
12 » »	0.0025	50	4.000.000
13 » »	....		Si trova morto.

[1] Ved. O. Modica, *Azione cronica del selenio.* (*Atti dell' Accademia Gioenia*, 1896-97, e *Arch. di farmac. e terap.*, 1897).

Esperienza 40ª. — Stesso coniglio dell'esperienza 38ª.

Data	Selenito somministrato per bocca	Grado dell'emometro di Fleisch	Globuli rossi in 1 mm. c.
29 Giugno 1896	0	75	4.900 000
1 Luglio »	0	75	5.210.000
2 » »	0.005		
3 » »	»		
4 » »	»		
5 » »	0.001		
6 » »	»	75	5.000.000
7 » »	0.0015		
8 » »	»		
9 » »	0.002	75	5.100.000
10 » »	»		
11 » »	»		
12 » »	0.0025		
13 » »	riposo	70	4.500.000
14 » »	0.003		
15 » »	0.004		
16 » »	»		
17 » »	»	55	4.000.000
18 » »	»		
19 » »	»		
20 » »	0.006	45	4.250.000
21 » »	»		
22 » »	»		
23 » »	»	40	3.800.000
24 » »	»		
25 » »	....	....	Si trova morto.

Esperienza 41ª. — Coniglio di gr. 1390.

Data	Selenito somministrato per iniez. ipod. in gr.	Grado dell'emometro di Fleisch	Globuli rossi in 1 mm. c.
1 Luglio 1896	0	80	5.700.000
4 » »	0	80	5.100.000
5 » »	0.001		
6 » »	»		
7 » »	»	80	4.900.000
8 » »	0.0015		
9 » »	»	75	4.100.000
10 » »	»		
11 » »	0.003		
12 » »	»	50	3.800.000
13 » »	....	....	Si trova morto.

Da queste tre esperienze si rileva, che nell' avvelenamento subacuto per selenio, sia che la somministrazione si faccia per iniezione ipodermica, sia che si faccia per bocca, diminuisce notevolmente sia la quantità dell' emoglobina, sia il numero dei globuli rossi del sangue.

Azione sul sistema nervoso e meccanismo d' azione nelle rane.

Dal modo di succedersi dei fatti generali osservati nei mammiferi, chiara appare l'azione paralizzante dell' acido selenioso sul sistema nervoso centrale, e prima sulla corteccia cerebrale e poi sul midollo spinale. In ultimo si paralizza il centro respiratorio, causa diretta della morte, e dopo il centro circolatorio.

Anche nelle rane la paralisi è centrale: facendo le solite

esperienze, togliendo cioè la circolazione a un arto inferiore mercè una stretta legatura di tutto l'arto, ad eccezione del nervo, dopo l'iniezione del selenio nel sacco linfatico del dorso, osservasi nell'arto legato la paralisi, come osservasi nell'altro arto non legato, nel mentre sia i muscoli che i nervi dei due arti non mostrano alcuna differenza manifesta verso lo stimolo della corrente elettrica indotta.

Riservandomi di studiare meglio come si modifichi l'eccitabilità elettrica dei nervi e dei muscoli col progredire dell'avvelenamento allorquando, colle esperienze di paragone farò un parallelo tra l'azione dell'arsenico e quella del selenio, espongo per ora alcune esperienze, che ho fatto allo scopo di vedere, se il sistema nervoso venga colpito direttamente dal veleno, o piuttosto che non siano i disturbi della circolazione e le alterazioni del sangue che lo alterino secondariamente.

Queste esperienze non si possono eseguire che nelle rane. In esse ho fatto due serie di esperienze: in una prima serie ho determinato quale relazione esistesse tra l'azione del selenio sul sistema cardio-vascolare e lo sviluppo dei fenomeni generali e la morte, in una seconda serie ho determinato quanto duri dopo la morte la eccitabilità elettrica del sistema nervoso centrale, sia nelle rane normali come in quelle avvelenate con l'acido selenioso.

1ª *Serie* — *Rapporto tra l' azione del selenio sul sistema cardio-vascolure e i fatti generali e la morte.* — Ecco per sommi capi i risultati di alcune esperienze:

Esperienza 42ª. — 28 aprile 1896. — Rana del peso di gr. 12 molto emaciata.

Ore 15.15'. — Si fissa con cordicelle e si mette il cuore allo scoperto.

Ore 15.45'. — Si mettono 2 mg. di selenito sodico sotto la pelle della coscia sinistra.

Ore 16.30'. — cioè dopo 45' dall'iniezione, il cuore è oscuro, enormemente dilatato, e fermo; solo le orecchiette fanno qualche pulsazione. Slegata, la rana salta energicamente anche che non venga stimolata, ha il senso dell'orientamento e i riflessi come una rana normale.

Esperienza 43ª. — 25 aprile 1896. — Piccola rana di gr. 7, emaciata.

Ore 10.15'. — Fissata la rana con cordicelle, si mette il cuore allo scoperto.

Ore 10.45'. — S'inietta sotto la pelle della coscia sinistra 1 mg. di selenito di sodio.

Ore 11.45' — cioè dopo 1 ora dall'iniezione, si arresta il cuore. Si slega la rana, la quale ha ottimi i movimenti spontanei e i riflessi.

Ore 12 — cioè dopo 15' incomincia l'indebolimento nei movimenti spontanei e nei riflessi.

Esperienza 44ª. — 20 maggio 1896. — Piccola rana di gr. 12, fresca.

Ore 12. — Si fissa la rana con cordicelle, e si mette il cuore allo scoperto.

Ore 12.17' — S'iniettano 2 mg. di selenito sodico sotto la pelle del dorso.

Ore 13.7. — Cioè dopo 50' si arresta il cuore. Slegata, la rana per nulla differisce da una normale.

Esperienza 45ª. — 20 maggio 1896. — Piccola rana di gr. 14, fresca.

Ore 13.10'. — Si fissa con cordicelle, e si mette il cuore allo scoperto.

Ore 13.30'. — S'iniettano 3 mg. di selenito sodico.

Ore 14.20' — cioè dopo 50', si arresta il cuore. Slegata, la rana ha il senso dell'orientamento ed i movimenti spontanei buoni.

Ore 14.32' — cioè dopo 12', si vanno indebolendo i riflessi e i movimenti.

Credo inutile riferire altre esperienze simili. Si conclude da esse, che nelle rane, finchè il cuore funziona, non si manifestano segni visibili di avvelenamento. Soltanto dopo 10-15 minuti da che esso si è fermato, incomincia l'indebolimento dei movimenti e dei riflessi.

Altre esperienze sono state fatte allo scopo di vedere in quanto tempo muoiono le rane normali dopo che si è legato o tagliato il cuore, ed in quanto tempo muoiono invece quelle avvelenate col selenio dopo che il cuore si è fermato per azione del veleno.

Esperienza 46ª. — 8 aprile 1896. — Due rane di gr. 12 fresche. Ad una si escide il cuore con un colpo di forbice, all'altra si mette il cuore allo scoperto, e s'iniettano 3 mg. di selenito sodico nei sacchi linfatici dorsali. La rana dissanguata muore 20' dopo l'escisione del cuore, quella avvelenata col selenio muore 29' dopo che si è fermato il cuore.

Esperienza 47ª. — 10 aprile 1896. — Due rane del peso di gr. 16 l'una e di gr. 17 l'altra. Alla prima si escide il cuore, alla seconda si mette il cuore allo scoperto e s'iniettano 3 mg. di selenito sodico sotto la pelle della coscia destra. La rana dissanguata vive 22' minuti dopo il taglio del cuore, l'avvelenata vive ancora 35' dopo che si è arrestato il cuore.

Esperienza 48ª. — 16 aprile 1896. — Due rane del peso ciascuna di gr. 12. Ad una si mette il cuore alla scoperto, e s'inietta 1 mg. di selenito sodico sotto la pelle delle coscia destra, all'altra si lega fortemente il cuore in modo da impedirne la funzione. La rana col cuore legato vive 28′ dopo la legatura, quella avvelenata vive ancora 45′ dopo l'arresto del cuore.

Esperienza 49ª. — 18 aprile 1896. — Due rane di gr. 15.10 l'una e di gr. 14.70 l'altra. Alla prima si lega il cuore, alla seconda si mette il cuore allo scoperto e s'iniettano 2 mg. di selenito sodico sotto la pelle della coscia sinistra. La rana col cuore legato muore 26′ dopo la legatura, quella avvelenata muore 38′ dopo l'arresto del cuore.

Ho moltiplicato queste esperienze, ed ho dovuto convincermi dell'esattezza dei risultati di esse. Di modo che io posso concludere, che sopravvive maggior tempo all'arresto della funzione del cuore una rana avvelenata col selenio, anzichè una rana normale. Questo ci indica, che il sistema nervoso della rana viene pochissimo influenzato dal selenio, ed ha poca importanza sulla morte di esse.

Risultati opposti hanno avuto *Czapech* e *Weil*, i quali dicono d'aver visto che, legando l'aorta ad una rana normale, essa muore in 20′, mentre la stessa operazione uccide una rana in 10′ se essa era precedentemente avvelenata col selenito sodico. Essi non dicono però in qual momento legavano l' aorta nella rana avvelenata: è evidente che si debbano avere risultati diversi a seconda del tempo in cui la detta legatura è stata praticata.

Intanto come spiegare i fatti da me trovati? Parrebbe veramente paradossale, che una rana avvelenata sopravvivesse all'abolizione della funzione del cuore più a lungo di una rana sana. Io credo si possa spiegare il fenomeno col fatto che il sangue, il quale contiene del selenito sodico tal quale o modificato, si riduce, ossia cede il suo ossigeno, più lentamente del sangue normale, e quindi se una rana normale a cui si sia abolita meccanicamente la circolazione vive per un dato tempo, quello che è necessario finchè sia esaurita la quantità di ossigeno contenuta nel suo sangue, una rana avvelenata col selenio, se questo non agisce che sul sangue, vivrà di più dopo l'abolizione della circolazione di esso, appunto perchè questo cederà lentamente la sua provvista di ossigeno.

Mi pare meno probabile il fatto, che i tessuti vengano ossidati più a lungo mercè l'ossigeno che si sviluppa dal selenito sodico se questo si decompone. Del resto faccio osservare, che nulla di sicuro sappiamo sul destino di questo sale nell'organismo, dappoichè, stando alle sue proprietà chimiche, non possiamo nemmeno prestare fiducia alle antiche ricerche del *Rabuteau* [1], il quale dice che questo composto si rinviene immodificato nelle urine degli animali cui si è somministrato.

Pertanto, da tutte le esperienze che ho finora riferito sul meccanismo d'azione del selenio risulta, che i fatti generali dell'*avvelenamento* nelle rane non si sviluppano che dopo l'arresto della circolazione, e che questo fenomeno è la causa, se non unica, certamente la più importante della morte. Il sistema nervoso verrebbe poco interessato. Questo ci viene confermato anche dalle seguenti esperienze:

2ª Serie. Durata postmortale della eccitabilità elettrica del sistema nervoso centrale sia nelle rane normali, come in quelle avvelenate col selenio.

Il sistema nervoso centrale delle rane veniva eccitato per mezzo di due elettrodi, che si strisciavano sul dorso, in corrispondenza dell' encefalo e del midollo spinale. Si riteneva spenta l'eccitabilità elettrica dei detti centri, allorchè lo stimolo non produceva più alcuna reazione generale. In questo momento i nervi periferici e la sostanza muscolare erano ancora eccitabilissimi alla corrente indotta.

Esperienza 50ª. — 8 aprile 1896. — Due rane fresche di gr. 12. Una si uccide escidendo il cuore, all'altra s'iniettano sotto la pelle del dorso 3 mg. di selenito sodico. Nella prima l' eccitabilità elettrica dei centri nervosi si spegne dopo $2^h.30'$ dalla morte e dopo $2^h.50'$ dall'escisione del cuore, nella seconda dopo $1^h.43'$ dalla morte, e dopo $2^h.12'$ dall' arresto del cuore.

Esperienza 51ª. — 10 aprile 1896. — Due rane del peso di gr. 16 l'una e di gr. 17 l' altra La prima si uccide coll' escisione del cuore, la seconda coll'iniezione sottocutanea di 3 mg. di selenito di sodio. Nella prima l'eccitabilità elettrica dei centri nervosi si spegne dopo $2^h.10'$ dalla morte, e dopo $2^h.32'$ dall'arresto del cuore, e nella seconda dopo $1^h.52'$ dalla morte e dopo 2^h $27'$ dall' escisione del cuore.

[1] Loc. cit.

Esperienza 52ª. — 16 aprile 1896. — Due rane del peso di gr. 12 ciascuna. A una si lega fortemente il cuore, all'altra s'inietta 1 mg. di selenito sodico. L'eccitabilità elettrica dei centri nervosi si spegne nella prima dopo $2^h.30'$ dalla morte, e dopo $2^h.58'$ dalla legatura del cuore, e nella seconda dopo 2 ore dalla morte e dopo $2^h.45'$ dall'arresto del cuore.

Esperienza 53ª. — 18 aprile 1896. — Due rane di gr. 15.10 l'una, e di di gr. 14.70 l'altra. Alla primà si lega il cuore, alla seconda si somministrano 2 mg. di selenito sodico. L'eccitabilità elettrica dei centri nervosi dura nella prima $2^h.50'$ dopo la morte, e 3^h dopo la legatura del cuore, e nella seconda 2 ore dopo la morte, e $2^h.38'$ dopo l'arresto del cuore.

In riassunto, facendo la media dei dati forniti dalle esperienze 50, 51, 52 e 53, si ha che, mentre il sistema nervoso centrale delle rane normali resta eccitabile alla corrente indotta per 2 ore e 30 minuti dopo la morte dell'animale, e per 2 ore e 50 minuti dopo l'escisione o la legatura del cuore, quello delle rane avvelenate col selenito sodico resta eccitabile per un'ora e 54 minuti dopo la morte, cioè 36 minuti meno di quello delle rane normali, e 2 ore e 30 minuti dopo l'arresto del cuore, cioè 20 minuti di meno di quello delle rane normali.

Da queste esperienze si può concludere, che l'eccitabilità elettrica dei centri nervosi nelle rane avvelenate col selenito sodico resti bene e a lungo conservata: essa non spegnesi dopo la morte, che poco prima di quel che si spegnerebbe nelle rane sane morte per arresto meccanico della circolazione. Se pigliamo come punto di partenza non la morte delle rane, ma l'arresto del cuore, vediamo come la detta eccitabilità si spegne in tempi presso a poco uguali sia nelle rane avvelenate col selenio, sia nelle normali, appunto perchè, come abbiamo precedentemente dimostrato, una rana sopravvive all'arresto della circolazione di più quando quest'arresto è dovuto al selenio, anzichè quando è dovuto ad una causa meccanica o al taglio del cuore.

Talchè abbiamo una conferma di quanto abbiamo precedentemente detto, che, cioè, nell'avvelenamento acuto per selenio, il sistema nervoso centrale della rana non viene, o vien poco, influenzato direttamente dalla sostanza. Sono principalmente i disturbi della circolazione e del sangue, che lo alterano secondariamente.

Dal Laboratorio di Farmacologia
della R. Università.

Catania, Novembre 1896.

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile*.

Istituto Anatomico di Firenze diretto dal Prof. G. Chiarugi.

SULLA DISTRIBUZIONE DEL TESSUTO ELASTICO
IN VARII ORGANI DEL CORPO UMANO.

SECONDA NOTA

DEL

DOTT. FERDINANDO LIVINI

Aiuto.

Per la difficoltà di avere a disposizione materiale sufficientemente fresco, non mi è possibile seguire un ordine prestabilito nel trattare dei varii organi appartenenti ad uno stesso apparato. In questa seconda nota, come continuazione alle ricerche sul sistema digerente, formeranno argomento di studio il velopendolo, la mucosa palatina e quella gengivale, la lingua.

Velopendolo.

Nel velopendolo, distaccato in corrispondenza del margine posteriore del palato duro, furono praticate sezioni trasverse ed antero-posteriori rispetto all' asse dell' organo. Descriverò dapprima quanto apparisce da queste ultime; e poichè la disposizione è differente alla faccia posterior-superiore ed alla faccia antero-inferiore dell' organo in questione, dirò separatamente dell' una e dell' altra.

Alla faccia antero-inferiore, al disotto dell' epitelio, sta uno strato di connettivo più o meno largo ove le fibre elastiche, di piccolo e medio calibro, isolate, tortuose, per lo più brevi, decorrono con varia direzione, qua piuttosto scarse, altrove relativa-

mente abbondanti. Segue un largo fascio elastico che in alcuni tratti è talmente fitto che mal si riesce a riconoscere le singole fibre che lo compongono: dove è un po' più rado si vede costituito da grosse e lunghissime fibre, che in gran parte hanno una direzione antero-posteriore, sono ravvicinatissime le une alle altre e descrivono lievi sinuosità. Il fascio, ora compatto, ora alquanto disgregato, ora più largo ($^1/_2$ millimetro di spessore), ora meno, esiste ininterrotto nei $^3/_4$ anteriori del velopendolo; e qui ad esso succede un altro strato di connettivo, con poche fibre elastiche isolate, strato che divide dalle voluminose ghiandole di questa regione il fascio medesimo. Aggiungerò come da quest'ultimo si diparta qua e là qualche fascetto che più o meno obliquamente si dirige verso la faccia superiore del velopendolo, passando fra i varii lobuli ghiandolari e poi fra i varii fasci muscolari: i fascetti, densi dapprima, si sparpagliano mentre procedono ed emettono propaggini che si insinuano a loro volta entro ai lobuli ghiandolari, in gran numero circondando i singoli tubuli e i dutti escretori, e poi framezzo ai più piccoli fasci muscolari. Come si comporta il fascio elastico in avanti e come indietro? Indietro, a distanza di circa 12-13 millim. dall'apice dell'ugola, esso si fa più compatto, va gradatamente diminuendo di spessore mentre si avvicina di più all'epitelio, finchè, a 7-8 millim. dal punto sopra ricordato, si esaurisce risolvendosi in fibre che si portano in varie direzioni, molte passando framezzo alle ghiandole. Riguardo al suo modo di terminare in avanti le sezioni che sto descrivendo dimostrandomi che il fascio continuava ancora all'estremo anteriore del velopendolo, per seguirlo io distaccai un lembo nel 3° posteriore della mucosa che tappezza il palato duro e vi praticai sezioni antero-posteriori. Ecco quanto in esse si osserva. All'estremo posteriore della sezione si ritrova il fascio, che ora si è portato molto vicino all'epitelio, sempre largo e fittissimo : comincia poi a farsi più rado, più disgregato, finchè, dopo un percorso di un $^1/_2$ centimetro circa, si sparpaglia come in avanti in numerose fibre che si dirigono in parte orizzontalmente, ma le più obliquamente verso l'alto.

Per terminare, della mucosa della faccia antero-inferiore mi

resta a dire qualche parola dell'estremo posteriore di essa. Qui non si ha una disposizione caratteristica, costante. In generale le fibre sono più scarse, più sottili ed isolate negli strati più superficiali; più grosse, assai più fitte e spesso riunite a fasci negli strati più profondi, qua e là con direzione variabilissima. I fasci più notevoli trovansi vicino alle ghiandole, framezzo alle quali si insinuano dirigendosi verso la faccia posterior-superiore del velo palatino.

Passo ora a descrivere quanto si osserva nella faccia testè ricordata e precisamente nella sua metà anteriore. Uno strato più o meno largo di connettivo che contiene ghiandole in buon numero, ma poco voluminose, succede all'epitelio; esso è scarsamente provvisto di fibre elastiche in alcuni tratti, mentre in altri se ne trovano accumulate e variamente intrecciate senza una regola determinata. Fa seguito un fascio elastico costituito da fibre di medio e grosso calibro, lunghissime e con direzione prevalente antero-posteriore, fascio che differisce da quello che si trova alla faccia antero-inferiore per essere di questo assai più irregolare, più disgregato, qua di larghezza notevole (7 a 8 decimi di millimetro), là così sottile, tanto da apparire per alcuni brevissimi tratti interrotto. Dove è più rado vi si scorgono framezzo fasci di connettivo molto denso che ben si rivelano colle colorazioni doppie con orceina ed eosina. A distanza notevole dall'epitelio in alcuni tratti, in altri il fascio elastico vi si avvicina molto. Subito al disotto di esso stanno i muscoli, framezzo ai quali invia numerosissimi fascetti che si dividono e si suddividono comportandosi al modo solito; qualche propaggine invia anche verso l'epitelio. Nella porzione anteriore della metà posteriore del velo il fascio si fa ancora più irregolare; lo si vede talora dividersi in 2, 3, 4 fascetti divergenti, per poi ricostituirsi in un fascio compatto; le fibre che lo compongono formano un intreccio così complicato che ne riesce impossibile lo studio. Di più si osservano alcune grosse ghiandole al disotto di esso, ghiandole che dapprima sono situate fra i fasci muscolari, mentre un po' più indietro si confondono senza linea di delimitazione colle grosse ghiandole della faccia inferiore. Come fra i mu-

scoli, così fra i varii lobuli ghiandolari il fascio invia numerosi e robusti fascetti che posson seguirsi per un lungo tratto. Infine, a distanza di 15 o 16 millimetri dall' apice dell' ugola, si esaurisce. In avanti, come quello della faccia antero-inferiore si continuava nella mucosa che tappezza il palato duro, quello della faccia posterior-superiore si continua nella mucosa che tappezza il pavimento delle fosse nasali, sempre cogli stessi caratteri; però non si avvicina all'epitelio, ma occupa invece gli strati più profondi, confondendosi con fitti ed intricati ammassi di grosse fibre elastiche che ritengo appartenere al periostio che, se non completamente, certo a frammenti fu distaccato insieme alla mucosa. Le ghiandole, poco voluminose, di questa regione, rimangono sempre comprese fra l'epitelio ed il fascio elastico, mai al disotto di quest'ultimo.

Grande variabilità verso l' estremo posteriore della mucosa della faccia superiore del velo. Le fibre di piccolo e medio calibro, quasi sempre isolate, sono sparse qua e là senza direzione costante. Molte isolate o a piccoli fascetti con decorso prevalentemente antero-posteriore sono accumulate subito sotto l'epitelio, ivi formando come un minuscolo straterello; si può aggiungere che verso l'apice dell'ugola, le fibre sono più scarse che non alla faccia inferiore; di più che il passaggio dalla faccia superiore alla inferiore avviene insensibilmente senza linea di delimitazione.

Conviene, per finire, dire qualche parola sopra una particolarità che si rileva dai tagli trasversali. Il grosso fascio elastico della faccia inferiore ha per tutta la larghezza lo stesso spessore, eccetto sulla linea mediana ove presenta un addensamento a forma di V colla base in basso (larga circa 2 millimetri) continua colla superficie superiore del fascio stesso, e l' apice in alto. La perpendicolare abbassata dall' apice sulla base del triangolo misura 11 a 12 millimetri. Le fibre componenti questo addensamento appariscono come tanti grossi punti ravvicinatissimi fra loro; il che significa, data la direzione del taglio, che esse fibre hanno un decorso antero-posteriore. Questo addensamento esiste solo nella metà anteriore del velopendolo, continuandosi anche per qualche millimetro nella

mucosa che tappezza il palato duro, come si rileva dalle sezioni condotte in senso trasversale, e che passano per la linea mediana, della mucosa testè ricordata; invece nella metà posteriore del velo non se ne trova traccia.

Ed ora qualche considerazione sopra i due grossi fasci elastici sopra descritti. Importanti rapporti essi contraggono coi muscoli, come abbiamo veduto; inviano infatti fascetti che immediatamente (dal fascio superiore), o dopo essere passati framezzo alle ghiandole (dal fascio inferiore), si insinuano fra i varii fasci muscolari, e da questi fascetti altri minori si dipartono che penetrano entro ai fascetti muscolari, e fra fibra e fibra muscolare. Per tali rapporti, tenuto conto anche che non si osservano in alcun punto addensamenti di connettivo, ad eccezione di quei fasci che dissi vedersi framezzo alle fibre elastiche del fascio della faccia superiore, a me non pare dubbio che i fasci in questione debbano essere considerati come due lamine aponeurotiche del velopendolo. E già, dicendo della faringe, avemmo occasione di rilevare che l'aponeurosi faringea era formata in massima parte da fasci elastici.

La descrizione che dell'aponeurosi del velo palatino si fa dai Trattatisti non è concorde. Secondo alcuni esiste una lamina aponeurotica fatta di tessuto fibroso ed elastico e medialmente ispessita che ha la stessa forma del velopendolo, che si fissa in avanti al margine posteriore della volta del palato e del setto delle narici, sui lati all'ala interna dell'apofisi pterigoide, e che si perde indietro nella porzione muscolare del velo (Debierre, (1) Romiti, (2) ecc.). Questa lamina occuperebbe (Testut, (3) Tillaux (4)) solo il terzo anteriore della lunghezza totale del velo. In Sappey (5) si trova questo di più, che essa aponeurosi è situata immediatamente al disotto della mucosa nasale; la sua faccia superiore aderisce intimamente alla membrana mucosa che la ricuopre; la faccia inferiore è coperta

(1) Debierre, *Traité élémentaire d'Anatomie de l'homme.* — Paris, 1890.
(2) Romiti, *Trattato di Anatomia dell'uomo.* — Edit. F. Vallardi.
(3) Testut, *Trattato di Anatomia umana.* — Torino, 1896.
(4) Tillaux, *Trattato di Anatomia topografica.* Vol. I. — Edit. F. Vallardi.
(5) Sappey, *Trattato di anatomia descrittiva.* — Napoli, 1882.

dallo strato ghiandolare del velo. Per Tillaux [1] che ammette nel velo palatino 3 piani muscolari, l'aponeurosi sarebbe posta fra questi piani, e precisamente ne avrebbe 2 al disopra e 1 al disotto. Secondo altri (Hyrtl [2], Beaunis e Bouchard [3] ecc.) essa non sarebbe altro che l'espansione delle fibre tendinee del muscolo sfeno-salpingo-stafilino, fibre che in parte attaccandosi al margine posteriore del palato duro, in parte riunendosi con quelle dell'opposto tendine, formerebbero una robusta lamina che costituisce come il sostegno del velopendolo. Cruveilhier [4] ammette una lamina aponeurotica costituita in gran parte da fibre proprie le quali fanno seguito al tessuto fibroso che prolunga, indietro, il setto e il margine esterno dell'orificio posteriore delle fosse nasali come anche la porzione fibrosa della tromba d'Eustachio; inoltre esisterebbe una seconda lamina fibrosa sottogiacente a quella sopra descritta e che fa seguito al tessuto fibroso della volta palatina; per modo che si potrebbe considerare l' armatura della metà superiore del velo palatino come formata da due lamine fibrose, una superiore, una inferiore, fra le quali sarebbe situato lo strato ghiandolare. Infine una strisciarella fibrosa, estesa dalla spina nasale all'ugola, occupa il rafe della faccia inferiore del velo palatino: essa invia fra le ghiandole un prolungamento che separa la metà destra dalla metà sinistra del velo.

Il Cruveilhier [5] è quello che più si avvicina alla verità. Ecco infatti come, secondo me, starebbero le cose.

Esistono nel velopendolo due lamine aponeurotiche, una superiore ed una inferiore, costituite in parte da tessuto fibroso denso, in massima parte da fasci elastici che hanno una direzione prevalentemente antero-posteriore.

La lamina inferiore, che è la più compatta, occupa i tre quarti anteriori del velo; è divisa dall'epitelio da uno strate-

---

(1) Tillaux, *Trattato di Anatomia topografica*. Vol. I. — Edit. F. Vallardi.

(2) Hyrtl, *Istituzione di Anatomia dell' uomo*. — Napoli.

(3) Beaunis Bouchard, *Nuovi elementi di Anatomia descrittiva*. — Edit. F. Vallardi.

(4) Cruveilhier. — *Traité d'Anatomie descriptive* (*Splanchnologie*). — Paris 1874.

(5) Ibidem.

rello piuttosto sottile di connettivo, contenente poche fibre elastiche; le grosse ghiandole di questa regione sono tutte situate al disopra di essa, e ne rimangono divise da una striscia di connettivo, piuttosto povero di fibre elastiche, che qua è sottile, là assai larga. In avanti la lamina non si fissa al margine posteriore del palato duro, ma, fattasi molto più vicina all'epitelio, si continua nella mucosa del palato duro, pèr terminare ivi, sfrangiandosi, dopo un percorso di circa mezzo centimetro. In questa regione ghiandole assai voluminose la separano dal periostio. Anche indietro la lamina si fa più vicina all'epitelio e termina sfrangiandosi a distanza di circa 7-8 mill. dall'apice dell'ugola. Infine, nella metà anteriore del velo, la lamina presenta sulla linea di mezzo un ispessimento a forma di V coll'apice in alto (il rafe): una striscia sottile di connettivo ricca di fibre elastiche, continua la direzione dell'apice, si porta in alto passando fra le ghiandole e divide la metà destra dalla metà sinistra del velo. Nella metà posteriore non esiste traccia di rafe, mentre in avanti esso si continua ancora per qualche millimetro nella mucosa palatina.

La lamina superiore, della quale i fasci elastici sono meno compatti, e nella quale, specie in alcuni tratti, sono abbondanti i fasci fibrosi, è divisa dall'epitelio della faccia superiore del velo da uno strato di connettivo largo che contiene le più piccole ghiandole di questa regione e poche fibre elastiche. Colla sua superficie inferiore essa è in diretto rapporto coi muscoli. In avanti si continua nella mucosa del pavimento delle fosse nasali, contraendo rapporti con accumuli di fibre elastiche che spettano al periostio, rimanendo le ghiandole comprese fra essa e l'epitelio: indietro si esaurisce, sparpagliandosi, a distanza di circa 13-14 millimetri dall'apice dell'ugola.

Per tal modo le grosse ghiandole della faccia antero-inferiore del velo ed i muscoli rimangono compresi fra le 2 lamine aponeurotiche; le piccole ghiandole della faccia posterior-superiore sono situate al disopra della lamina superiore.

Nel velopendolo di neonato le fibre elastiche sono già molto abbondanti, e la loro disposizione non differisce da quella che si osserva nell'adulto. Soprattutto è da rilevare il notevole

sviluppo che assumono i due fasci elastici, superiore ed inferiore, i quali si comportano esattamente come quelli corrispondenti nell'adulto. Quello superiore, dove è più largo, ha uno spessore di 1/3 di millimetro; l'inferiore, che è compattissimo, ha quasi dappertutto questo spessore, e in qualche tratto raggiunge il 1/2 millimetro. Bene sviluppato nella metà anteriore del velo l'addensamento a forma di V del fascio per ultimo ricordato. Poche e sottili le fibre elastiche nel connettivo interposto fra l'epitelio e il fascio superiore; quello inferiore poi è situato così vicino all'epitelio che l'intervallo che fra l'uno e l'altro rimane è impercettibile. Numerosi i fascetti che si dipartono da ambedue i fasci e che si insinuano fra le ghiandole e fra i fasci muscolari. Estremamente scarse le fibre elastiche entro ai lobuli ghiandolari ed ai più piccoli fascetti muscolari.

Mucosa palatina

Dissi come il fascio elastico, che si trova alla faccia inferiore del velopendolo, si continui nella mucosa che tappezza il palato duro e come in essa termini. Ora aggiungerò che in questo ultimo tratto, dall'esame di sezioni antero-posteriori praticate su larghi lembi di mucosa palatina distaccata il più possibilmente rasente l'osso, si rileva che al disopra del fascio elastico sta del connettivo nel quale le fibre elastiche sono, almeno in alcuni tratti, piuttosto sottili, poco tortuose, con direzione variabile; si incontrano poi le ghiandole, continuazione di quelle pertinenti alla faccia inferiore del palato molle. Un po' più in avanti, una volta esaurito il fascio elastico, nel connettivo interposto fra epitelio e ghiandole si osservano fibre elastiche assai numerose di piccolo e medio calibro, anch'esse poco tortuose, isolate o riunite a piccoli fascetti, più fitte e più grosse negli strati più superficiali, ad eccezione di un sottile strato subito sotto l'epitelio, assai fitte nelle papille, e incrociantesi fra loro in tutti i sensi. Al disopra delle ghiandole sta un altro

strato di connettivo nel quale la disposizione delle fibre elastiche non è costante; scarse assai in alcuni tratti, abbondanti in altri, con direzione varia, sono ora isolate, ora riunite a ciuffetti che, mentre si portano dall'alto al basso, si disgregano in numerose e sottili fibrille. Alcuni robusti fasci, costituiti da lunghe e grosse fibre, si portano dagli strati più profondi verso i superficiali penetrando fra i lobuli ghiandolari; le fibrille sottili nelle quali essi si risolvono possono seguirsi fin presso l'epitelio. Accennerò infine come negli strati più profondi, in quelli cioè contigui all'osso, si notino qua e là accumuli di fibre elastiche grosse ed intricatissime, che rassomigliano esattamente a quelli osservati negli strati più profondi della mucosa nasale e che ritengo essere frammenti di periostio.

Questo nel 3° posteriore della mucosa palatina. Le sezioni trasversali condotte nel 3° medio (ove si trovano ancora delle ghiandole) e che passano per la linea mediana, se ne togli una maggiore scarsità di fibre elastiche negli strati più vicini all'epitelio, mostrano una disposizione simile a quella che si riscontra nel 3° posteriore.

Quanto alla mucosa del 3° anteriore, ove mancano le ghiandole, nei densi fasci di connettivo per $^2/_3$ della loro altezza partendo dall'epitelio, si osservano fibre elastiche piuttosto numerose, assai meno però che nel 3° posteriore, estremamente sottili, filiformi, poco o punto tortuose, isolate e in massima parte senza direzione costante, fatta eccezione per alcuni piccoli fascetti che si osservano qua e là diretti dall'alto verso l'epitelio e alcuni dei quali penetrano nelle papille. Queste si mostrano gremite di fibre elastiche; deve però esser tenuto conto di quelle che appartengono alle pareti dei vasi sanguiferi che penetrano nelle papille medesime, e che abbastanza facilmente si distinguono dalle altre. Negli strati più profondi le fibre elastiche sono di calibro maggiore, più numerose e più fitte, e qui, come nei $^2/_3$ posteriori della mucosa, vedonsi dei fasci più o meno robusti che si portano sparpagliandosi dagli strati più profondi verso l'epitelio.

Nella mucosa palatina del neonato le fibre elastiche sono relativamente bene sviluppate negli strati più profondi; scar-

sissime in quelli superficiali, soprattutto del 3° anteriore della mucosa. Del resto la loro disposizione non differisce da quella che si ritrova nell'adulto.

Gengive

Poche parole saranno sufficienti per dire del tessuto elastico nella mucosa gengivale.

Mentre in alcuni Autori non si trova cenno sulla presenza o meno del tessuto elastico nelle gengive, in altri (Cruveilhier(¹)) si legge che « la mucosa gengivale, come quella palatina, è notevole, oltrechè per altri caratteri, per questo, che essa è costituita solo da connettivo, *senza traccia di tessuto elastico.* »

Niente di meno vero. Non solo le gengive non sono sprovviste di fibre elastiche, ma ne contengono in gran numero, se si fa eccezione per il tratto che sta più vicino al margine alveolare ove esse sono scarsissime e possono anche mancare del tutto. Ecco ora pochi particolari.

Al disotto dell'epitelio, come apparisce dalle sezioni verticali praticate sopra un lembo di mucosa gengivale distaccata sulla faccia esterna dal margine alveolare fino al punto di riflessione sulla mucosa labiale, sta una striscia di connettivo, che ha presso a poco lo stesso spessore in tutta la sezione, nella quale le fibre elastiche o mancano, o solo qualcuna sottilissima se ne osserva qua e là isolata: anche delle papille alcune sono sprovviste di fibre elastiche, mentre in altre se ne osserva qualcuna sottile che decorre in genere secondo la lunghezza della papilla medesima.

In tutto il restante connettivo le fibre sono numerosissime, ma senza una disposizione caratteristica. Si può dire che ve ne hanno di ogni calibro, lunghe e brevi, tortuose o no, isolate o a fascetti, intrecciate fra loro in vario modo, più fitte anzi fittissime in alcuni tratti, assai meno in altri, ma senza una regola fissa. Anche qui, verso la superficie aderente all'osso, no-

---

(¹) Cruveilhier, loc. cit.

tansi qua e là i soliti accumuli di fibre elastiche grosse, intricatissime (brandelli di periostio).

In vicinanza del margine alveolare le fibre elastiche, come già accennai, si fanno più rade, sebbene conservino in gran parte un discreto calibro, e sono sparse a gruppetti qua e là senza ordine; infine nel tratto nel quale la mucosa si riflette per passare dalla faccia esterna a quella interna esse o mancano o se ne trova soltanto qualcuna con andamento tortuoso.

Anche nel neonato le fibre sono numerose e grosse in quella porzione della mucosa gengivale che sta più lontana dal margine alveolare; poi esse si fanno più rade, finchè, in prossimità del margine stesso, e in corrispondenza di tutta quella parte di mucosa che lo ricuopre non se ne trova traccia.

Lingua

Per essere la struttura della lingua così varia nei varii tratti, ho creduto necessario praticarvi numerose sezioni sistematicamente in regioni prestabilite, e poichè nelle varie regioni la disposizione colla quale le fibre elastiche si presentano non è uniforme, per comodo di studio ne faremo precedere la descrizione minuta in una di esse regioni, per mettere poi in rilievo le differenze fra questa e le altre. E sarà sulla mucosa linguale che noi ci intratterremo, riserbandoci di dire alla fine della muscolatura, per la quale, come vedremo, poche parole saranno sufficienti.

Per primo descriveremo quello che apparisce nei tagli antero-posteriori della punta dell'organo in questione.

Con deboli ingrandimenti possiamo intanto rilevare che le fibre elastiche sono assai abbondanti ovunque, ma si presentano con disposizione alquanto diversa, e soprattutto in numero e di volume differente, alla faccia dorsale e alla faccia ventrale.

Nella mucosa del dorso osserverò anzitutto che non si riesce ad apprezzare una differenza nel quantitativo in fibre elastiche fra gli strati più superficiali ed i più profondi, tranne,

almeno in qualche tratto, uno straterello sottile subito al disotto dell'epitelio, nel quale esse fibre sono scarsissime. Nel resto si presentano relativamente non molto fitte, per lo più brevi e sottili, molto ondulate, isolate e decorrenti in tutte le direzioni, senza che ve ne sia una prevalente, incrociandosi in varia guisa fra loro: solo eccezionalmente si veggono riunite in piccoli fascetti, che dopo breve percorso si risolvono nelle singole fibrille. Sono degni di nota alcuni fasci piuttosto grossi che si osservano qua e là portarsi dallo strato muscolare tortuosamente verso l'epitelio, mentre si sparpagliano in numerose fibre: di sovente si vede qualche fibra muscolare striata, quasi completamente avvolta dalle fibre componenti il fascio medesimo del quale essa segue la direzione e rappresenta come l'asse. Del resto havvi grande uniformità soprattutto per la lunghezza e per la grossezza delle fibre: con ciò non vogliamo dire che qualcuna non se ne osservi che spicca o per la sua maggior grossezza o per la sottigliezza estrema, ma è raro. Numerose fibre si portano nel connettivo che forma lo scheletro delle papille linguali: però, con l'esame a debole ingrandimento, sembrano in numero assai maggiore di quel che non siano in realtà, poichè, come avemmo ad osservare nelle papille del 3° posteriore della mucosa palatina, vengono colorate anche le fibre spettanti alle pareti dei vasi sanguigni che penetrano nelle papille medesime. Con ingrandimenti forti si riesce abbastanza facilmente a discernere quelle facenti parte delle pareti vasali dalle altre che, in numero ora maggiore ora minore, senza che io abbia potuto apprezzare una differenza fra le papille più sottili e le più grosse, sono generalmente ed uniformemente sottili, ondulate, con direzione prevalente ed in taluni casi esclusiva secondo la altezza della papilla, mentre altrove sono in vario senso oblique. Alcune ve ne hanno tanto lunghe da potersi seguire dall'apice della papilla fin presso lo strato muscolare. Si noti che le fibre sono in genere più scarse alla periferia della papilla, inoltre che molte raggiungono le parti più elevate di questa fino a contatto dell'epitelio, spingendosi anche, sebbene in minor numero e sottili, nelle papille secondarie. Accennerò infine come dalla mucosa si passa allo strato dei muscoli senza che vi sia l'indice

di un limite fra l'una e gli altri come in taluni organi abbiamo potuto osservare.

Quando dalla faccia dorsale ci portiamo a quella ventrale, ecco quanto si nota: le fibre elastiche sono qui assai più numerose, più grosse, molto ravvicinate fra loro e con direzione prevalente trasversale (infatti nelle sezioni che stiamo esaminando, e che dicemmo essere antero-posteriori, si presentano come grossi punti assai vicini gli uni agli altri). Se si eccettua una sottile striscia al disotto dell' epitelio dove le fibre sono più scarse e più sottili, nel resto del connettivo compreso fra epitelio e muscoli, la disposizione è uniforme. Non mancano fibre sempre assai grosse che si portano obliquamente, ora isolate, ora riunite in fascetti, sia dal di dietro in avanti, sia da destra a sinistra. Anche le piccole papille di questa regione sono provviste di alcune fibre elastiche che tortuose le percorrono, per lo più secondo la loro lunghezza. Va notato come le fibre elastiche nella regione che stiamo studiando vadano facendosi più grosse e più fitte man mano che dal davanti ci portiamo indietro, verso il punto cioè nel quale la mucosa linguale si continua con quella che tappezza il pavimento della bocca. Questo fatto si apprezza chiaramente dall' esame a debole ingrandimento di larghe sezioni sagittali; nello stesso tempo si riceve l'impressione che le fibre elastiche sono ridotte al *minimum*, tanto per numero che per volume, in corrispondenza della maggior convessità della sezione, nel tratto cioè nel quale si passa dalla faccia dorsale alla ventrale, mentre raggiungono il *maximum* ai due estremi dell'arco che la sezione descrive (s'intende con le differenze fra i due che sopra furono messi in rilievo), estremi che corrispondono, dorsalmente a centimetri 1 $^1/_2$ a 2 al di dietro della punta della lingua, ventralmente presso a poco al punto nel quale la mucosa si riflette per continuarsi con quella che tappezza il pavimento della bocca. Termino la descrizione dicendo come intorno alle voluminose ghiandole che si osservano alla faccia ventrale di questa regione, come anche intorno ai singoli tubuli decorrono in vario senso sottili fibre elastiche. Un fitto intreccio troviamo intorno ai dutti escretori, intreccio, che poco spesso nei più piccoli, va

crescendo nei più grandi, fino ad assumere uno straordinario sviluppo nei massimi, che rimangono involti come da un denso manicotto di grosse fibre elastiche che si incrociano in tutti i sensi. Nemmeno alla faccia ventrale esiste l'indice del limite fra mucosa e muscoli.

Lo studio di sezioni praticate su uno dei margini della lingua, a distanza di centim. 2 a 2 $^1/_2$ dall'apice (questa misura si intende presa seguendo la curva che l'organo descrive) nulla ci fa apprezzare di differente da quello che fu sopra descritto.

Se però ci portiamo più indietro ed esaminiamo a piccolo ingrandimento una sezione trasverso-verticale del margine subito al davanti del V linguale e che comprenda il 3° esterno della faccia dorsale, il margine, la faccia ventrale e la mucosa a questa continua che tappezza il pavimento della bocca, ecco quanto apparisce: Tre zone sono ben distinte; una centrale, che corrisponde alla metà superiore del margine ed alla parte prossima della faccia dorsale, ove le fibre elastiche sono straordinariamente scarse; poi due altre zone, una superiore ed una inferiore, nelle quali le fibre elastiche sono abbandantissime, inferiormente più che superiormente. Dalla zona centrale si passa a ognuna delle altre due per gradazione. Illustro brevemente ciascuna zona.

Nella parte media di quella centrale havvi un tratto poco esteso, nel quale osservasi soltanto qualche sottile e breve fibra elastica con direzione non costante: in vicinanza dei muscoli le fibre si fanno più fitte e più grosse restandone varia la direzione. Quando si trovano ghiandole, intorno a ciascun lobulo, come anche nell'interno di questo stanno numerose fibre elastiche colla solita disposizione. Dalla zona in questione tanto andando verso la faccia ventrale, quanto verso quella dorsale si vedono le fibre crescere gradatamente di numero e di volume: verso la faccia dorsale il passaggio è molto graduale; dapprima le fibre sono di medio calibro, piuttosto corte e si incrociano in tutti i sensi, un po' più numerose negli strati profondi. Man mano che ci avviciniamo alla linea mediana si fan più grosse e più fitte e in gran parte assumono una direzione trasversale soprat-

tutto negli strati profondi, ivi costituendo dei larghi fasci. Meno graduale è il passaggio dal lato ventrale. Ben presto le fibre crescono di numero e di calibro, fra loro incrocicchiandosi in maniera complicata, finchè si arriva alla formazione di un intreccio fittissimo che occupa tutto lo strato compreso fra epitelio e muscoli, e dal quale partono robusti e lunghi fasci che si portano verso la faccia dorsale passando fra i fasci muscolari. Avuto riguardo alla grossezza delle fibre che lo compongono e al modo intricato col quale queste si incrociano, il reticolo ricorda quello che si osserva alla faccia esterna delle labbra. Esso si continua anche nella mucosa che tappezza il pavimento della bocca, ed anzi sembra ivi farsi ancora più fitto.

Le sezioni condotte in senso trasverso-verticale in corrispondenza di quella parte della lingua che sta poco al davanti del forame cieco, fra le due branche del V linguale, rivelano una disposizione simile a quella che si osserva alla punta (superficie dorsale), con questo che là le fibre sono più abbondanti soprattutto negli strati superficiali e nelle papille che sono letteralmente gremite di lunghe e tortuose fibre, alcune delle quali assai grosse. Non son riuscito ad apprezzare che queste si comportassero differentemente nelle papille più sottili, filiformi e nelle più larghe fino alle fungiformi. Piuttosto mi conviene intrattenermi su quanto presentasi nelle papille circumvallate.

Per tale studio ho praticato delle sezioni parallelamente ad una delle branche del V linguale. Si legge in alcuni trattati, che fanno cenno sulle fibre elastiche della lingua, che queste mancano nelle papille circumvallate. Orbene ciò non è corrispondente al vero: sta solo il fatto che ivi sono in minor numero che nelle altre specie di papille. Per esser breve dirò che si riscontrano dei tratti, nell'interno delle papille in questione, ora nelle parti più basse, ora nelle medie, che sono sprovvisti di elementi elastici o ne contengono qualcuno sottile, isolato. Per contrario in altri tratti essi sono molto fitti, e con variabile direzione. Talora veggonsi venire dal basso fasci di lunghe e sottili fibre, poco o punto tortuose, come a ciuffo, che si spingono più o meno in alto senza che raggiungano gli strati più superficiali ed ora seguendo la lunghezza della papilla, ora più o

meno obliqui. Infine, al disotto dell'epitelio, si ha un intreccio non fitto, ma piuttosto complicato, dal quale si diparte qualche fibra che penetra nelle papille secondarie fino al loro estremo.

Mi rimane da illustrare il 3° posteriore della lingua, quella parte cioè che è situata al di dietro del V linguale. Da questa regione ho tolto un largo pezzo nella parte media e vi ho praticato tagli trasverso-verticali rispetto all'asse dell'organo.

Ciò che subito colpisce è la grande scarsità di fibre elastiche negli strati superficiali. Partendo dall'epitelio e andando verso i muscoli, troviamo un largo tratto di connettivo ove quelle o mancano o solo qualcuna ve ne ha qua e là breve, sottile, isolata. Nulla attorno ai follicoli linfatici. Invece negli strati più profondi, tostochè si incontrano le ghiandole, intorno ad esse, come nel loro interno, le fibre stanno in gran numero, e poi nel restante connettivo interposto fra i varii lobuli ghiandolari e fra i fascetti muscolari osservansi fasci voluminosi di lunghe fibre che si intrecciano variamente. Più numerose in alcuni tratti, meno in altri, e qua prevalendo una direzione, là un'altra, riesce impossibile dare una descrizione dettagliata. Quanto al setto linguale, che fu certamente compreso nelle sezioni, non sono riuscito a riconoscerlo; è probabile che stieno a rappresentarlo alcuni di quei grossi fasci ultimamente descritti che però non sono differenziabili dal resto.

Per quel che si riferisce alla disposizione degli elementi elastici nei muscoli, nulla ho da mutare o da aggiungere a quanto fu detto a proposito delle labbra, delle guancie, ecc.

Non mi sembra ora fuor di luogo un breve riepilogo di quanto venne minutamente esposto. Noi possiamo stabilire i seguenti fatti:

L'elemento elastico raggiunge il massimo sviluppo nella mucosa della faccia ventrale della lingua; il secondo posto spetta a quella della faccia dorsale; viene per ultimo la mucosa dei margini.

Alla faccia ventrale si ha, nel 3° medio uno sviluppo maggiore che alla punta; sui margini invece è giusto in quel tratto che corrisponde il *minimum;* anche alla faccia dorsale il massimo corrisponde al 3° medio, viene in seconda linea il 3°

anteriore con differenza non molto notevole, infine il 3° posteriore.

Quanto alle papille le più scarsamente provviste sono quelle circumvallate; ne sono molto ed egualmente provviste le altre specie di papille, però, a quanto sembra, quelle del 3° medio della lingua più che quelle del 3° anteriore.

Mi resta, per finire, riferire succintamente quanto riguarda la lingua di neonato.

Alla punta la disposizione è sostanzialmente eguale a quella di adulto. Le fibre elastiche sono in proporzione assai numerose nel connettivo compreso fra epitelio e muscoli, con la differenza accentuatissima fra faccia dorsale e ventrale che osservasi nell'adulto. Noto come nella faccia ultimamente ricordata predomini la direzione antero-posteriore delle fibre che costituiscono densi fasci. Anche le papille ne sono ben provviste; deficienza grande invece si ha fra i muscoli, come anche intorno e framezzo alle ghiandole. Sui lati questa deficienza si riscontra anche nel connettivo interposto fra epitelio e muscoli, sopratutto nella faccia dorsale ove le fibre sono ridotte a pochissime, sottili, filiformi. Questo stesso fatto si verifica anche in vicinanza del V linguale in corrispondenza del dorso e dei margini; ma alla faccia ventrale le fibre divengono gradatamente più numerose, più fitte, più grosse, finchè, presso al punto nel quale la mucosa linguale si continua con quella che tappezza il pavimento della bocca, si ha un intreccio molto fitto, che si continua più fitto ancora nella mucosa ultimamente ricordata. Anche intorno ai muscoli come intorno e framezzo alle ghiandole le fibre sono qui in maggior numero.

Al 3° medio del dorso, fra le 2 branche del V linguale la disposizione è uguale a quella che si osserva alla punta (superficie dorsale).

Nelle papille circumvallate gli elementi elastici o mancano o sono ridotti a qualche sottilissima fibrilla.

Infine nel 3° posteriore quasi nessuna fibra si trova nel connettivo posto fra epitelio e muscoli; soltanto in vicinanza di questi ultimi esse si fanno relativamente abbondanti e si possono vedere fasci abbastanza notevoli con direzione non costante

che si intromettono fra i fascetti muscolari e fra i lobuli ghiandolari.

Nota. — Il dottor Fumagalli, in una nota pubblicata nei numeri 7-8 del *Monitore zoologico Italiano* di quest'anno (Il tessuto elastico nella ghiandola lagrimale dell'uomo), dopo aver detto che per le sue ricerche si è valso dell'orceina, applicando la modificazione da me proposta al metodo Unna-Taenzer soggiunge: « Il Livini dice di lasciare le sezioni nella miscela colorante da sera a mattina, ma io osservai che mentre le grosse fibre elastiche si coloravano in 24 a 48 ore, le esili fibrille periacinose si resero evidenti solo dopo molto tempo e non ottenni una colorazione completa che all'8°-10° giorno, lasciando inoltre le sezioni nel termostato a 37° ». Mi permetta il dott. Fumagalli alcune osservazioni, che reputo indispensabili in quanto che è sulle sezioni colorite secondo quelle regole da me stabilite, ch'io ho basato e baso la descrizione del tessuto elastico in molti organi del corpo umano. Orbene, io posso dimostrare centinaia di preparati dei più svariati organi, nei quali, accanto alle fibre elastiche più grosse che mi sia stato dato di osservare, stanno fibrille così esili che solo a ingrandimenti molto forti si riesce a scoprirle, e aggiungo che la intensità di tinta che esse assumono non è per nulla inferiore a quella delle fibre più grosse. Così ho osservato ed ho anche descritto le sottili fibre che stanno intorno alle ghiandole, come a ciascun tubulo o alveolo ghiandolare; nè mi sono sfuggite quelle che sembrano attraversare il tubulo o l'alveolo da un punto all'altro del suo diametro, soltanto non le ho descritte perchè le ho ritenute una semplice apparenza, non sapendomi immaginare delle fibre elastiche tese, come fili, entro al lume ghiandolare. Ma v'ha di più. Mi è occorso talora, per mancanza di tempo, di lasciare delle fette nella miscela colorante per parecchi giorni. In tali casi o non era avvenuta evaporazione di alcool, e ottenevo preparati buoni ma non differenti da quelli ottenuti colla immersione dalla sera alla mattina (specificherò anzi dalle 5 pom. circa alle 9 o le 10 ant. del giorno successivo); oppure l'alcool era evaporato, ed allora, per quanti lavaggi io facessi non riuscivo a rendere incoloro il fondo ed avevo così preparazioni meno eleganti e meno chiare, senza vantaggio alcuno. Ed ecco un altro punto sul quale richiamo l'attenzione del dott. Fumagalli. « È bensì vero, egli continua, che, dato il tessuto speciale della ghiandola lagrimale, il fondo assumeva una colorazione troppo intensa, che riuscii però *a diminuire notevolmente*, ecc. » Ma è giusto a questo inconveniente ch'io voleva ovviare colla mia modificazione, pur riuscendo a tingere anche le più sottili fibre elastiche! Ed allora, tanto valeva servirsi del metodo Unna-Taenzer genuino.

Voglio accennare come io sia riuscito, adoperando le solite soluzioni, ad ottenere anche colorazioni in massa per praticare consecutivamente i tagli in serie. In altra nota darò le indicazioni precise in proposito.

(Laboratorio di Fisiologia in Firenze, diretto dal prof. G. Fano).

CONTRIBUTI ALLA CONOSCENZA DELL' IMPORTANZA FISIOLOGICA DELLE SOSTANZE MINERALI

DEL

DOTT. FILIPPO BOTTAZZI

Aiuto e Libero Docente di Fisiologia.

I.

Intorno allo stato dei sali minerali nei liquidi e nei tessuti. (1)

(RICERCHE CRIOSCOPICHE).

Una delle questioni più importanti è quella che riguarda lo stato in cui si trovano i sali minerali nell'interno degli elementi morfologici dei nostri tessuti e dei liquidi che li bagnano; e a questa si riconnettono altre questioni non meno importanti: come sono assorbiti i sali minerali, come passano essi dal sangue e dalla linfa nelle cellule viventi, come vengono eliminati, ecc.

Le risposte possibili a tali questioni sono: o i sali minerali compiono il loro ciclo metabolico in forma di sali liberi sciolti nei succhi dell' organismo, o si trovano e circolano dovunque in forma di combinazioni con le sostanze proteiche, o si può dare l'una cosa e l'altra insieme. S' intende però che nel primo caso essi debbano molto probabilmente entrare o prima o poi in combinazioni organiche, restandovi per un certo tempo, e che nel secondo debbano pur attraversare delle fasi in cui necessariamente trovansi allo stato libero.

(1) Comunicazione fatta all' Accademia medico-fisica di Firenze, a dì 7 luglio 1897. Ved. la *Settimana medica dello Sperimentale*, n° 28, pag. 339-340, 1897.

Ma le questioni accennate sono, pur troppo, di quelle meno accessibili all'indagine sperimentale e ad una soluzione diretta.

In sostanza, tutto quanto s'è fatto finora per chiarire questo problema consiste o nella dimostrazione dell'esistenza di vere e stabili combinazioni proteico-saline nei diversi tessuti e liquidi dell'organismo, o nello studio del modo come reagiscono fra loro *in vitro* le sostanze proteiche e i sali minerali. Da qualche tempo solamente le ricerche sulla pressione osmotica dei liquidi organici hanno aperto un nuovo campo di studi proficui.

***

Cl. Bernard (¹) ebbe delle idee precise intorno a questo argomento.

I sali minerali — egli scrisse — « non si fissano negli esseri viventi che in combinazioni organiche, le quali cangiano completamente le loro proprietà minerali, facendoli entrare come elemento costituente d'un principio organico nuovo. »

» Quando più tardi — egli aggiunge — questi sali sono eliminati, egli è ch'essi abbandonano quei composti organici, che hanno compiuto il loro ufficio nello svolgimento dei fenomeni della vita. Perchè gli elementi che costituiscono l'organismo possano circolarvi senza esercitare azione medicamentosa o tossica è dunque necessario ch' essi non siano introdotti allo stato di corpi semplici o liberi. È necessario, inoltre, perchè questi elementi rimangano nell'economia senza cagionarvi dei disturbi, ch'essi vi siano ritenuti allo stato di una combinazione contratta con la materia organica. »

Ma il pensiero di Bernard va anche più in là, sino ad ammettere che nell'organismo non possa trovarsi, p. e., del cloruro sodico, altro che in forma di combinazione proteica. Ciò risulta almeno dalle sue parole. « Si dia pure — egli dice — ad un animale una quantità considerevole di cloruro di sodio: la quantità ritenuta non sarà più grande, che se gliene si fosse somministrata una quantità minore.... l'eccesso sarà eliminato

(¹) Cl. Bernard, *Leçons sur les effets des substances toxiques et médicam.* Paris. 1857.

senza essersi fissato, perchè non avrà potuto contrarre una di quelle combinazioni organiche che sole ritengono nel corpo i principî minerali, combinazioni ch' essi abbandonano quando devono escirne. »

Per i sali dei metalli pesanti, la loro attitudine a contrarre combinazioni stabili con le sostanze proteiche è salutare. Egli dimostrava nel suo corso la facilità con cui avvengono simili combinazioni, con un' esperienza ripetuta poi dal Cervello [1] tanti anni dopo.

« Ecco del siero — egli dice. — Se vi aggiungiamo alcune goccie di lattato di perossido di ferro, voi vedrete che il sale di ferro non sarà più rivelato dalle reazioni più proprie a metterlo in evidenza nelle condizioni ordinarie dell' esperimentazione chimica. Infatti, benchè la mescolanza del lattato di ferro col siero sia stata fatta a freddo, condizione sfavorevole che non si verifica nell'organismo, i prussiati giallo e rosso di potassio versati nel liquido non danno luogo ad alcuna colorazione bleu. »

Le idee espresse da Cl. Bernard in una maniera così limpida, sono oramai quelle da tutti accettate.

Tuttavia poco v' ha di ben determinato, tanto nelle espressioni del Bernard quanto in quelle degli altri scrittori che per brevità non ho citato, intorno alle condizioni particolari in cui si trovano i sali nei liquidi e negli elementi morfologici dell'organismo animale.

Io ho mandato a termine una lunga serie di ricerche sul metabolismo dei sali di K e di Na nei globuli rossi del sangue, e queste ricerche saranno presto pubblicate.

Ma prima ho voluto raccogliere insieme in questa nota i risultati sommari di molte determinazioni crioscopiche, eseguite con l'apparecchio di Beckmann, le quali io feci con lo scopo di chiarire più specialmente i rapporti esistenti fra la pressione osmotica esistente nell' interno dei globuli rossi del sangue, vale a dire fra la pressione intracellulare e quella del siero del sangue e degli altri liquidi isosmotici.

---

(1) *Arch. per le scienze mediche*, vol. IV, pag. 353-387, 1881. — *Arch. di Farmacol. e Terapeut.*, vol. V, pag. 109-117. 1896.

Giacchè, se è facile parlare d'una pressione dei liquidi dell'organismo, non è agevole formarsi un'idea esatta della pressione osmotica intracellulare.

Noi possiamo a questo proposito esprimere finora solamente delle ipotesi e prendere in considerazione alcune probabilità, che ricerche d'altro genere ci rendono possibile di formulare.

Che cosa possiamo intendere noi per pressione osmotica intracellulare? Evidentemente la pressione osmotica della parte liquida del carioplasma e del citoplasma, di quella parte cioè in cui solo possono trovarsi disciolte sostanze cristalloidi molecolarmente attive. Questa parte fluida risulta dei succhi nutritivi provenienti dall'ambiente liquido in cui la cellula è immersa, e anche dei prodotti dello stesso metabolismo cellulare. Ora si può *a priori* pensare che, molto probabilmente, la pressione osmotica di questo succo cellulare sia identica a quella dei liquidi in cui la cellula è immersa. Altrimenti stanno le cose per i contenuti dei vacuoli, la cui pressione osmotica può anche essere differente da quella del succo cellulare, considerando che il loro contenuto può avere qualche volta un carattere secretorio.

I sali poi che si trovano combinati con le sostanze proteiche delle strutture solide cellulari non possono essere molecolarmente attivi, come non lo sono quelli legati dalle sostanze proteiche circolanti. A noi interessa però di vedere se scomponendo queste combinazioni salino-proteiche e permettendo che i sali combinati diventino liberi, la pressione osmotica complessiva viene ad alterarsi.

Giacchè se alla scissione delle dette combinazioni seguisse un aumento della pressione, bisognerebbe pensare che i sali contenuti nelle formazioni dell'impalcatura cellulare fossero in quantità maggiore dell'acqua che contemporaneamente può liberarsi, mentre il contrario dovrebbe ammettersi qualora la pressione osmotica divenisse minore. Se, finalmente, questa non ne rimanesse modificata, dovremmo credere o che i sali e l'acqua sono combinati in quelle strutture nella stessa relazione in cui si trovano nei liquidi, o che i mezzi meccanici da noi speri-

mentati non sono stati sufficienti a determinare la scissione delle combinazioni salino-proteiche.

Alcune delle ricerche che ora riferirò sono state fatte con questo scopo speciale.

Io ho cercato in vari modi di distruggere le normali combinazioni salino-proteiche della parte solida della cellula, alterando profondamente la cellula stessa, e ottenendo così, nello stesso tempo, che il succo cellulare divenisse libero.

1. Ho alterato profondamente i globuli rossi, gelando e disgelando ripetutamente una data quantità di sangue, e determinandone il punto di congelamento prima e dopo, nel sangue normale e nello stesso sangue sottoposto a ripetuti congelamenti.

23 giugno 1896. Sangue di bue, defibrinato mediante lo sbattimento con perline di vetro, in boccette chiuse: 15 cm.³

$$\Delta = - 0{,}603^\circ \text{ C.}$$

Siero dello stesso sangue, ottenuto mediante la centrifugazione:

$$\Delta = - 0{,}606^\circ \text{ C.}$$

Il sangue fu lasciato 10 minuti nel tubo crioscopico immerso nel miscuglio frigorifero; quindi lo stesso tubo fu immerso in acqua tiepida. Il congelamento e il disgelamento fu ripetuto tre volte. Dopo la terza volta fu determinato di nuovo il punto di congelamento, che risultò

$$\Delta = - 0{,}593^\circ \text{ C.}$$

In questo caso, anzi che abbassarsi il punto di congelamento si elevò di — 0,013° C, forse perchè i globuli rossi contenevano dell'acqua che divenne libera per effetto della loro distruzione.

In un altro saggio di sangue, si ebbe lo stesso resultato.

23 giugno 1896. Sangue di bue normale:

$$\Delta = - 0{,}604^\circ \text{ C.}$$

Lo stesso sangue dopo 4 successivi congelamenti e disgelamenti, divenuto d'un bel color lacca:

$$\Delta = -0{,}603^{\circ}\ C.$$

Si può dunque concludere, *che con la distruzione dei globuli rossi del sangue operata dal congelamento e disgelamento ripetuti, non si mettono in libertà dei sali; che l'emoglobina che si scioglie nel siero non ha un'influenza notevole sulla pressione osmotica di questo; e che la pressione osmotica del siero è normalmente eguale a quella del liquido contenuto nell'interno dei globuli rossi del sangue*

2. Nemmeno la coagulazione mediante il calore provoca nel sangue modificazioni della sua pressione osmotica.

Sangue normale di cane, defibrinato:

$$\Delta = -0{,}584^{\circ}\ C.$$

Lo stesso sangue coagulato in un tubo chiuso sopra un bagno d'acqua, lasciato raffeddare e filtrato.

Nel filtrato

$$\Delta = -0.578^{\circ}\ C.$$

Si osserva anzi una lieve diminuzione della pressione osmotica del liquido, forse perchè i corpi proteici, coagulando, legano una parte dei sali liberi. Per convincermi di ciò ho fatto anche delle ricerche sopra soluzioni di albume d'ovo in soluzioni di NaCl e di solfato di magnesio all' 1 $^{\circ}/_{\circ}$.

Sempre ho osservato *una diminuzione della pressione osmotica del liquido in seguito alla coagulazione.*

3. Ho cercato poi se, alterando i globuli rossi con molta acqua distillata, era possibile scoprire una differenza di pressione osmotica in essi e nel siero, e la presenza in essi di sali liberi.

26 giugno 1896. a) 15 cm^3 di sangue di bue furono mescolati con 15 cm^3 di H^2O; il miscuglio fu dolcemente agitato e lasciato per 5 ore in riposo. Determinato il punto di congelamento in 15 cm^3 di miscuglio, lo si trovò

$$\Delta = -0{,}280^{\circ}\ C.$$

(Δ del sangue normale $= -0{,}603^{\circ}$ C).

b) 10 cm^3 di siero dello stesso sangue furono mescolati con 10 cm^3 di H^2O; il miscuglio fu agitato e lasciato anche per 5 ore. Determinato il punto di congelamento in 15 cm^3 del miscuglio fu trovato

$$\Delta = -0{,}304^\circ \text{ C.}$$

$$(\Delta \text{ del siero normale} = -0{,}606^\circ \text{ C}).$$

c) Fu centrifugata una porzione dello stesso sangue e decantato il siero.

10 cm^3 di poltiglia corpuscolare densa fu mescolata con 10 cm^3 di H^2O; il miscuglio fu ripetutamente agitato, e poi lasciato in riposo per 5 ore, si determinò quindi il punto di congelamento in 15 cm^3 del miscuglio, e lo si trovò

$$\Delta = -0{,}259^\circ \text{ C.}$$

Da queste determinazioni resulta che nel primo caso (*a*) il punto di congelamento del miscuglio di volumi eguali di sangue e H^2O fu minore della metà del punto di congelamento del sangue normale, e che lo stesso fatto si verificò per il miscuglio di poltiglia corpuscolare e H^2O; mentre il punto di congelamento del miscuglio di siero e H^2O risultò approssimativamente eguale a quello del siero normale, anzi alquanto più basso.

Questi risultati si possono solamente spiegare ammettendo o che la pressione osmotica intraglobulare sia alquanto inferiore a quella del siero, o che le sostanze organiche costituenti lo stroma globulare abbiano la proprietà d'impadronirsi di una certa quantità di acqua e di fissarla in modo da sottrarla alla soluzione dei sali del sangue.

Ammessa una di queste due interpretazioni, per spiegare la lieve diminuzione di pressione osmotica che presenta il miscuglio di sangue e acqua (diminuzione che doventa più considerevole se si pensa che per il principio di Arrhenius avrebbe dovuto anzi verificarsi un aumento di pressione osmotica) risulta sempre evidente il fatto che la pressione osmotica esistente nell'interno dei globuli rossi non differisce notevolmente da quella del siero del sangue.

4. *Il sangue o il siero, attraversati per un certo tempo da una corrente di CO^2, presentano una pressione osmotica superiore a quella normale.*

a) Sangue normale defibrinato di bue:

$$\Delta = -0{,}603^\circ \text{ C.}$$

b) 20 cm³ di questo sangue sono attraversati per 10 minuti da una corrente di CO^2. Il punto di congelamento di esso è

$$\Delta = -0{,}689^\circ \text{ C.}$$

c) Siero normale dello stesso sangue:

$$\Delta = -0{,}606^\circ \text{ C.}$$

d) 20 cm³ di questo siero sono attraversati per 10 minuti da una corrente di CO^2. Il punto di congelamento del siero è ora

$$\Delta = -0{,}630^\circ \text{ C.}$$

Da queste determinazioni risulta inoltre che l'aumento della pressione osmotica è maggiore nel sangue, che nel siero.

Feci poi altre esperienze con piccole quantità di poltiglia corpuscolare sciolta in una quantità relativamente grande di H^2O.

Due porzioni di questo miscuglio, che da solo presentava un abbassamento del punto di congelamento dell' H^2O affatto trascurabile, furono poi attraversate separatamente da una corrente di CO^2 e da una corrente di H.

La porzione attraversata dal CO^2 presentò un punto di congelamento

$$\Delta = -0{,}048^\circ \text{ C;}$$

quella attraversata dall'H appena uno spostamento dello 0° del termometro.

Varie cause possono essere invocate a spiegare questo fatto.

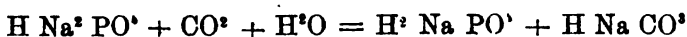
Innanzi tutto delle molecole di CO^2 si sciolgono nell'acqua del sangue o del siero, e Köppen (¹) ha mostrato ch' esse pos-

(¹) *Pflüger's Arch.*, Bd. LXVII, pag. 189-206, 1897.

sono, in questo stato, abbassare il punto di congelamento dell'acqua distillata. Ma l'abbassamento osservato da Köppen è assai piccolo.

Qui deve necessariamente anche influire il fatto che l'CO^2 agendo sui carbonati e sui fosfati dimetallici del siero, forma dei carbonati e dei fosfati monometallici:

$$Na^2 CO^3 + CO^2 + H^2O = 2 NaHCO^3$$

$$H Na^2 PO^4 + CO^2 + H^2O = H^2 Na PO^4 + H Na CO^3$$

aumentando così la molecolarità del liquido e di conseguenza la sua pressione osmotica. Il fatto che *la pressione osmotica diventa maggiore nel sangue che nel siero, saturati di* CO^2, non si spiega molto facilmente, sapendosi che quei sali si trovano essenzialmente nel siero, e che, a volumi eguali, naturalmente nel siero dovranno esservi più carbonati e fosfati che nel sangue. Bisognerà dunque ammettere che per azione di massa l' CO^2 sia capace di fissarsi sui metalli alcalini che fanno parte della composizione del globulo. Evidentemente questa fissazione dovrà essere accompagnata da una disintegrazione dei composti salino-proteici globulari e da una messa in libertà di proteine della stroma. Ciò è in perfetto accordo con ciò che io stesso (1) in altra occasione potei dimostrare, che cioè nell'asfissia, le emazie subiscono notevoli perdite di sostanza azotata. E poichè — aggiungevo — emoglobina non passa nel plasma, si può supporre o che, rimanendo legata allo stroma la parte cromatica, si stacchi dall'emoglobina una certa quantità della parte acromatica, o che le emazie perdano proteine dello stroma. Ora vediamo che il fenomeno è accompagnato da una messa in libertà di sali molecolarmente attivi. L'interpretazione che dianzi ho dato del fenomeno mi sembra dunque giusta.

Con le osservazioni ora riferite si accorda anche il fatto, che la pressione osmotica del sangue venoso è sempre leggermente superiore a quella del sangue arterioso.

---

(1) BOTTAZZI, *Di alcune alterazioni determinate dall' asfissia nelle emazie.* (*Lo Sperimentale*, anno XLIX (Sezione biologica), fasc. III, 1895).

Dall' insieme di queste ricerche risulta, dunque, che in un solo modo è stato possibile osservare una modificazione della pressione osmotica del siero del sangue come effetto della alterazione degli elementi morfologici in esso contenuti, vale a dire mediante l'azione di abbondante quantità di CO^2. Ma questo è un mezzo chimico, che può gettare un po' di luce sull' importanza fisiologica del CO^2 e sulla sua azione tossica non solo sulle emazie, ma, naturalmente, anche su tutti gli altri elementi cellulari. I mezzi fisici, la semplice distruzione dei globuli rossi, non portano di conseguenza alcuna modificazione della pressione osmotica totale.

Ciò potrebbe spiegarsi, o ammettendo che i mezzi adoperati non siano stati sufficienti a scomporre le combinazioni salino-proteiche, o che i sali si trovino in queste combinazioni in un tale rapporto rispettivamente all'acqua che le stesse contengono per imbibizione molecolare, da non alterare il rapporto complessivo fra acqua e sali, quando esse vengono in un modo qualunque scomposte, se azioni chimiche non intervengono.

Nel caso che la prima supposizione sia più probabile, rimane tuttavia dimostrato che almeno il *succo cellulare*, che certamente vien messo in libertà nei trattamenti dianzi ricordati, *ha una pressione osmotica presso che eguale a quella del siero.*

5. Ho voluto poi cercar di dimostrare sperimentalmente che un sale o un acido liberi, combinandosi, alla temperatura dell'ambiente o a una temperatura di poco superiore (20-25 C°), con i corpi proteici, non sono più molecolarmente attivi sulla pressione totale del liquido, per quella parte di essi che entra nella combinazione proteica.

Naturalmente ho scelto fra i sali uno, che non solo ha molta tendenza a combinarsi con le sostanze proteiche, ma che per la sua natura chimica non è tra i più dissociabili, il solfato ferroso; e tra gli acidi, l'acido cloridrico, di cui esperienze di altri autori hanno già dimostrato la grande attitudine a formare dei cloridrati di albumina.

Ecco i resultati ottenuti:

14 dicembre 1896. a) 12 cm^3 di albume d'ovo, sbattuto e filtrato:

$$\Delta = -0,465° \text{ C.}$$

b) Lo stesso fu sgelato e leggermente riscaldato; quindi vi si aggiunse gr. 0,1 di solfato ferroso purissimo finemente polverizzato.

Agitando a lungo, si aspettò che il sale fosse completamente sciolto, e quindi si determinò il punto di congelamento del liquido, che risultò

$$\Delta = -0,502° \text{ C.}$$

L'albume d'ovo aveva già presentato la reazione colorata caratteristica che ha luogo quando si fa agire sopra di esso il solfato ferroso. [1]

c) 12 cm^3 di H^2O + gr. 0,1 di solfato ferroso (non disidratato, come nel caso precedente):

$$\Delta = -0,09° \text{ C.}$$

Mediante il seguente semplicissimo calcolo, si vede che la pressione osmotica dell'albume d'ovo, dopo l'aggiunta del sale ferroso, è minore di quella che doveva essere se i corpi proteici in esso contenuti non avessero legato chimicamente una parte del sale:

$$0,465 + 0,09 = 0,555$$
$$0,555 - 0,502 = 0,053.$$
$$0,09 - 0,053 = \mathbf{0,037}.$$

Vale a dire una quantità di sale tale che sciolta in H^2O avrebbe prodotto un abbassamento del punto di congelamento pari a — 0,037°C è stata forse chimicamente legata dalle proteine dell' albume, per cui ha perduto ogni azione sulla pressione osmotica.

---

[1] Ved. la mia nota successiva (II) in questo stesso giornale.

Lo stesso resultato, anzi molto più evidente, si ottenne con l'acido cloridrico diluito.

14 dicembre 1896. *a*) Lo stesso albume d'ovo del caso precedente, 12 cm_3:

$$\Delta = -0,465^{\circ} \text{ C.}$$

b) 12 cm^3 di H^2O + cm^3 0,1 di HCl:

$$\Delta = -0,349^{\circ} \text{ C.}$$

c) 12 cm^3 di albume di ovo (lo stesso di *a*) dopo il disgelamento e un leggero riscaldamento) + cm^3 0,1 di HCl (aggiunto con precauzione in guisa da evitare formazione di coaguli):

$$\Delta = -0,687^{\circ}\text{C.}$$

Onde:

$$0,465 + 0,349 = 0,814$$
$$0,814 - 0,687 = 0,127$$
$$0,349 - 0,127 = \mathbf{0,222}.$$

In questo caso, dunque, una quantità di HCl, la quale sciolta in H^2O avrebbe prodotto un abbassamento del punto di congelamento pari a $-0,222^{\circ}$ C, fu legata dall'albumina e resa molecolarmente inattiva.

Mi sembra dunque che, in base a queste osservazioni, si possa concludere che, molto probabilmente:

1° Le sostanze minerali combinate chimicamente con le sostanze proteiche non influiscono sulla pressione osmotica totale del liquido in cui sono disciolte le dette combinazioni.

2. È crioscopicamente dimostrata l'attitudine che hanno le proteine di fissare in forma di vera combinazione chimica (la cui natura a noi rimane pur sempre ignota) sostanze minerali saline e acide.

6° Abbiamo visto che una delle proprietà più importanti delle sostanze proteiche è quella di fissare i sali minerali, proprietà già conosciuta da Cl. Bernard.

Evidentemente questa proprietà ha dei limiti, oltre i quali i sali non vengono più fissati.

Ho voluto per ciò vedere gli effetti che risente la normale

pressione osmotica del siero del sangue in seguito all' iniezione endovenosa di un' abbondante quantità di soluzione salina ipertonica.

a) Sangue arterioso di un cane che si trovava da 15 giorni a completo digiuno.

Siero ottenuto mediante la centrifugazione:

$$\Delta = -0{,}675^\circ \text{ C.}$$

Si iniettano al cane, per la giugulare, 500 cm³ di una soluzione tiepida da NaCl 1,5 % (ipertonica).

b) Dopo 24 minuti si prende un altro saggio di sangue arterioso, si centrifuga, e si determina il punto di congelamento del siero, che risulta:

$$\Delta = -0{,}711^\circ \text{ C.}$$

c) Dopo altri 10 minuti, si estrae un nuovo saggio di sangue, e si determina il punto di congelamento del siero, che è

$$\Delta = -0{,}709^\circ \text{ C.}$$

Anche ammettendo, come non v'ha alcun dubbio, che dopo un tempo più lungo la pressione osmotica del siero sarebbe tornata alla cifra normale, da questa esperienza resulta:

1. che *si può temporaneamente aumentare la pressione osmotica del sangue, mediante iniezioni endovenose di liquidi ipertonici.*

2. che *di conseguenza, la capacità delle sostanze proteiche di fissare i sali introdotti repentinamente nel sangue non può andare oltre un certo limite*, al di là del quale, forse, come ammetteva Cl. Bernard, i sali stessi verrebbero gradatamente eliminati. Tuttavia si può anche pensare che una parte del NaCl iniettato siasi fissato in combinazioni proteiche, e che il rimanente sia rimasto in forma di sale libero, aumentando la pressione osmotica del liquido complessivo.

Le ricerche crioscopiche hanno dimostrato che i liquidi dell' organismo animale posseggono una determinata pressione osmotica, costante ed eguale per alcuni (sangue, linfa, latte, bile, ecc.), variabile per altri (succo gastrico, orina, ecc.). Ora

il contributo che possono portare le sostanze proteiche alla molecolarità di questi liquidi non può essere che piccolissimo, data la loro enorme complessità molecolare. D'altra parte bisogna ammettere che una molecola di sale fissata in una molecola proteica non possiede più alcun valore tonico, non ha influenza sulla pressione osmotica del liquido in cui si trova; e si può anche ammettere che le grandi molecole delle sostanze proteiche fissando e rimettendo in libertà delle molecole saline, influiscano sulla pressione osmotica dei liquidi dell'organismo (Fano e Bottazzi) [1]. Necessariamente dunque questa è dovuta, almeno in massima parte, a sali liberi, più o meno dissociati elettroliticamente. Ma non bisogna dimenticare che tutte le altre sostanze cristallizzabili, tutte le sostanze estrattive, in quanto sono libere e sciolte nei liquidi dell'organismo debbono avere anche la loro parte nel grado di tonicità di essi. La pressione osmotica dei liquidi dell'organismo sembra dunque essere la risultante delle pressioni parziali esercitate da un gran numero di sostanze in essi disciolte, dalle sostanze proteiche, che vi contribuiscono in minima parte, ai sali minerali liberi che non solo vi contribuiscono in massima parte, ma ai quali forse anche spetta la regolazione della pressione.

Come possiamo noi considerare questi sali liberi sciolti nei liquidi dell'organismo e nei succhi interstiziali?

Se i sali possono essere assorbiti ed eliminati allo stato libero, allo stato di soluzione acquosa, bisognerà pur ammettere che nella stessa forma debbano essi anche trovarsi a un certo momento del metabolismo di quelle sostanze con cui sono ordinariamente combinati. E poichè la disintegrazione della sostanza vivente non soffre vere interruzioni, la messa in libertà di sostanze minerali dev' essere anche continua. Ma l'eliminazione di esse è regolata da processi speciali, in massima parte a noi finora ignoti, i quali contribuiscono a che la pressione osmotica dei liquidi dell'organismo rimanga costante.

Si può dunque ritenere come molto probabile che i sali molecolarmente attivi dei liquidi dell'organismo siano in parte

---

(1) *Arch. ital. de Biologie,* tom. XXVI, pag. 45-62, 1896.

quelli introdotti coll' alimentazione e non ancora fissati in combinazioni organiche, in parte quelli provenienti dalla disintegrazione delle sostanze proteiche nell'incessante loro metabolismo.

Un' importanza singolare dette il Winter [1], fra questi sali, al NaCl, sia per la sua presenza in quantità preponderante (0,61 °/₀ nel siero di sangue), sia perchè è uno dei sali elettroliticamente più dissociabili, sia per la sua grande diffusibilità.

Io sono ben lontano dal negare l' importanza di questo sale; ma mi sembra che nelle parole del Winter vi sia della esagerazione.

Innanzi tutto egli erra, quando afferma che il NaCl contribuisce al mantenimento della pressione osmotica costante perchè può attraversare osmoticamente ogni membrana animale. Una sostanza che esercita una pressione osmotica, l' esercita perchè non è capace di attraversare la membrana semipermeabile per via osmotica. Ora per il NaCl le membrane cellulari non sono permeabili.

In secondo luogo, vi sono dei liquidi aventi la stessa pressione osmotica del sangue, in cui il NaCl si trova in piccola quantità; p. e., il latte, che contiene solo 0,285 °/₀ di sostanze minerali, di cui gran parte risulta di fosfati di calcio e di sali di potassio. In questo caso bisogna attribuire molta importanza nel mantenimento della pressione normale allo zucchero del latte.

Finalmente lo stato di dissociazione del NaCl mi sembra che non possa essere inteso nel modo come l'intende il Winter. Se io ho compreso bene il pensiero di questo Autore, egli ammette che se il NaCl viene a diminuire nel sangue, le molecole di quello rimasto si dissociano nei loro joni aumentando la molecolarità del liquido, se il sale viene a trovarvisi in quantità abbondante gli joni dissociati si ricombinano, sì che la pressione rimane sempre la stessa.

Ciò implicherebbe, però, delle oscillazioni considerevoli nel contenuto in cloruro di sodio del siero, oscillazioni che non sono state mai dimostrate; anzi è stata sempre affermata e sperimentalmente dimostrata la costanza del contenuto salino del sangue.

---

[1] *Arch. de Physiol. norm. et pathol.* (5ᵉ série), tom. VIII, 1896.

Inoltre simili fenomeni di dissociazione e ricombinazione degli joni avverrebbero, stando alle parole del Winter, esclusivamente a carico del cloruro sodico libero, mentre bisogna ammettere che una certa importanza spetti anche a quello organicamente combinato nel mantenimento della pressione costante.

A me sembra dunque che il fenomeno della dissociazione abbia molta importanza, ma che essa principalmente riguardi i composti salino-proteici, che per molte ragioni siamo obbligati ad ammettere nei liquidi dell'organismo, e ai quali Fano ed io (¹) demmo già, in altra occasione, una grande importanza per il mantenimento della costante pressione osmotica dei medesimi. Secondo quella nostra ipotesi, se la pressione osmotica p. e. del siero tende ad aumentare, molecole libere di sali, e specialmente di NaCl nel sangue, di altri sali in altri liquidi, vengono fissate dai corpi proteici; se la pressione tende a diminuire, le stesse molecole vengono rimesse in libertà, ristabilendo così in ogni caso la pressione media normale.

Che le sostanze proteiche abbiano la proprietà di fissare variabili quantità di sostanze minerali, è dimostrato dal fatto che, mediante la dialisi, possono esser loro sottratte quantità diverse di sali prima che sia raggiunto quel punto in cui esse ne rimangano precipitate o denaturate. Che esclusiva importanza non debba essere attribuita al solo cloruro sodico, si comprende agevolmente, pensando che vi sono liquidi in cui questo sale non rappresenta la sostanza cristalloide preponderante. Che finalmente tali fenomeni di dissociazione, specialmente idrolitica, possano aver luogo anche in soluzioni di composti chimici organici molto complessi, risulta chiaramente dalle ricerche di Overton (²) sul modo di comportarsi di alcuni alcaloidi fatti agire sul protoplasma di cellule vegetali, e da quelle di Siöqvist (³) e di Cohnheim (⁴) sui cloridrati di albumina e di proteosi e peptoni.

(¹) Loc. cit.

(²) *Zeitschrift für physikalische Chemie*, Bd. XXII, pag. 189-209, 1897.

(³) *Skandinavisches Archiv f. Physiologie*, Bd. V, pag. 277-377, 1895.

(⁴) *Zeitschrift f. Biologie*, Bd. XXXIII, pag. 489-520, 1896. — Ved. anche: O. Paal, *Ueber die Peptonsalze des Glutins*, *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.*,

II.

Sulle combinazioni ferruginose delle sostanze proteiche.

Sono note le reazioni che hanno luogo quando dei sali di metalli pesanti sono messi a contatto di proteine disciolte.

Quella più comune e più nota è la formazione di un abbondande precipitato, il quale risulta d'una combinazione insolubile della proteina col sale. Alcune di queste combinazioni sono però solubili in un eccesso di soluzione proteica. Furono dette *albuminati* (di ferro, di mercurio, di rame, ecc.), e possono essere scomposti mediante l' H^2S, col qual mezzo le proteine ritornano allo stato primitivo, senza presentare alterazioni degne di nota.

Per quanto riguarda più specialmente i sali di ferro, che essi entrino in vere combinazioni chimiche con la molecola proteica è dimostrato dal fatto, che i comuni reagenti usati a svelare anche minime tracce di ferro inorganico non sono più atti a dimostrare la presenza di questo metallo nei composti ferruginosi delle proteine, Cl. Bernard (1), Cervello (2). Ma nulla sappiamo ancora dell'intima natura chimica del composto, come in generale di tutti gli altri composti salino-proteici.

Un'altra reazione caratteristica è la riduzione dei sali ferrici, ramici, mercurici, ecc. in sali ferrosi, ramosi, ecc. e dei rispettivi ossidi in ossiduli. Questo fatto fu dimostrato da Drechsel (3) per varie sostanze proteiche, da Krukenberg (4) e ultimamente da Cervello (5), più specialmente per i sali di ferro.

Queste due reazioni avvengono tanto in liquidi acidi

Bd. XXV, Heft 6, pag. 176, 1892, e Id., *Ueber die Peptonsalze des Eieralbumins, Ibidem*, Bd. XXVII, Heft 13, pag. 847.

(1) *Leçons sur les effets des substances toxiques et médicam.* Paris, 1857.

(2) *Arch. per le scienze mediche*, vol. IV, pag. 358-387, 1881 e *Arch. di farmacol. e terap.*, vol. V, pag. 109-117, 1896.

(3) *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, Bd. XXI, pag. 68-70, 1895.

(4) Cit. da Cervello.

(5) Loc. cit.

quanto in liquidi alcalini, ma più facilmente in questi ultimi; esse inoltre non sono esclusive delle proteine vere, ma si verificano anche con altre sostanze proteiche e coi prodotti della digestione peptica delle medesime.

Io voglio richiamare qui l'attenzione sopra una reazione che non ho visto ricordata dagli Autori, che pur si sono occupati di tali questioni.

L'albumina (dell'albume d'ovo e del siero di sangue) agisce sul $Fe\,SO^4$, sul $Cu\,SO^4$, e forse sopra altri sali analoghi, come un alcali forte, separando l'idrato di ossidulo di ferro, di rame, ecc., che poi tosto si ossida. L'idrato di ossidulo di ferro, che nel primo momento precipita, tosto si ridiscioglie completamente, forse combinandosi con le proteine.

La reazione va fatta con solfato ferroso puro, che non siasi ossidato stando a lungo all'aria. Essa può assumere un decorso differente a seconda della concentrazione della soluzione proteica e salina. Se si adopera albume puro sbattuto e soluzione concentrata di solfato ferroso, non si forma alcun precipitato e si osserva il liquido divenir subito verde cupo con riflessi violetti, forse *per la formazione rapida di ossidi intermedi.* Certamente la reazione colorata è simile a quella che si ottiene quando si fa agire una soluzione non molto diluita di solfato ferroso sopra un alcali caustico o sopra un carbonato alcalino. Lasciando quel liquido all'aria, dopo qualche ora si nota ch'esso comincia a ricoprirsi d'uno strato giallo-rossastro; questo strato gradatamente progredisce in basso invadendo sempre nuove porzioni del liquido, che in fondo è ancora verde-bruno con riflessi violacei. Il distacco fra i due colori è nettissimo, ed è ancora accentuato dal fatto che, mentre gli strati sottostanti si conservano fluidi, gli strati superiori divenuti giallo rossastri presentano un precipitato granuloso che rimane sospeso in una specie di liquido gelatinoso.

Mi sembra che si possa giustamente interpretare questo fatto ammettendo una ossidazione del composto di ferro che si trova nello strato più superficiale del liquido, dove è a contatto con l'aria, per cui si forma idrato d'ossido di ferro. Riguardo poi alla precipitazione, mi sembra probabile che, come

in casi analoghi avviene, il *composto proteico dell'idrato ferroso, solubile in un eccesso di proteina, diventi insolubile come questo si ossida in idrato ferrico.*

Se si aspetta che l'ossidazione sia completa, e che tutto il liquido siasi trasformato prima in una massa gelatinosa granulosa di color giallo-rossastro sporco, e poi in una massa granulosa amorfa dello stesso colore, si ottiene una materia insolubile in acqua, che non putrefà anche se lasciata a lungo all'aria, pur permettendo lo sviluppo di muffe sulla sua superficie, e che non presenta le reazioni caratteristiche del ferro se non quando è scomposta, p. e., mediante il trattamento con acido cloridrico.

Anche questo, dunque, sembra essere un composto proteico di ferro, da poter mettere a lato alla *ferratina* di Marfori e Schmiedeberg e al composto ottenuto da Cervello per mezzo del percloruro di ferro fatto agire sull'albume d'ovo o sulle proteine del siero di sangue.

Se si adoperano soluzioni più o meno diluite di albume d'ovo e di solfato ferroso, tutte le fasi della reazione si svolgono con maggior chiarezza e più lentamente, il liquido non assume mai un colore intensamente bruno, e il precipitato finale risultante dal composto ferrico-proteico si depone al fondo del vaso, separandosi dal liquido, che non si rapprende in massa come quando si adopera albume d'ovo in sostanza.

Dissi che anche messo in contatto un $CuSO^4$, l'albume d'ovo forma idrato d'ossido di rame; ma il precipitato che si forma nel momento della reazione si scioglie molto più lentamente nel liquido proteico. Per questa ragione preferii di fare le esperienze sempre sul solfato ferroso.

Gli stessi fatti si osservano se, in vece d'albume d'ovo o siero di sangue più o meno diluiti, si adopera una soluzione di caseina in K^2CO^3 2 $^0/_0$.

Ho preparato una soluzione di caseina purissima nel seguente modo:

Ho prima centrifugato del latte di mucca, per allontanare la massima parte del grasso. Ho diluito quindi il latte così scremato con un volume d'acqua distillata, e ho precipitato la

caseina con acido acetico. Ho sciolto poi il precipitato, ripetutamente lavato con acqua acidula, in soluzione 2 °/₀ di K^2CO^3 e ho estratto a lungo con etere la soluzione alcalina di caseina, finchè il liquido sottostante dell'imbuto a separazione non presentasse più traccia di globuli grassosi.

Se ora sopra questa soluzione di caseina, più o meno diluita, si fa agire una soluzione più o meno concentrata di solfato ferroso, si osserva quanto segue:

Appena giunti a contatto i due liquidi, si forma un precipitato grigio-bruno, il quale ha lo stesso colore di quello che si forma quando si versa la soluzione di sale ferroso in una soluzione di carbonato potassico, ma non lo stesso aspetto fisico, somigliando il primo piuttosto ai precipitati proteici che a quelli salini.

Ma il precipitato, o semplicemente agitando se le proporzioni di caseina e di sale di ferro sono adeguate, o con un leggero riscaldamento, tosto si ridiscioglie, l'intiero liquido rimanendo tinto di un bel color bruno-rossastro, che ricorda il colore del sangue fatto color lacca.

Io ho provato ad aggiungere la soluzione di caseina in una provetta dove si trovava del precipitato prodotto dalla reazione del solfato ferroso sul carbonato potassico, e ho visto che esso si scioglieva scaldando leggermente.

Molto probabilmente, dunque, si tratta d'una combinazione della caseina col ferro, la quale è solubile in un eccesso della stessa sostanza proteica. Anche qui risulta evidente la proprietà dei corpi proteici di sciogliere dei precipitati di sali di ferro, combinandosi con essi.

Degno di nota è il fatto che, se si acidifica il liquido limpido in cui trovasi sciolto il caseinato di ferro, naturalmente precipita la caseina; ma questa porta seco il ferro, poichè il precipitato è tinto in giallo rossastro, mentre il liquido rimane incolore; in altre parole, per l'acidificazione precipita il composto di caseina e ferro. Questo può essere raccolto, lavato con acqua acidula e poi ridisciolto in un liquido alcalino.

Laboratorio di Patologia Speciale Medica della R. Università di Modena
diretta dal prof. L. Vanni

RICERCHE BATTERIOLOGICHE SUL SANGUE DI ANIMALI

RESI SPERIMENTALMENTE URINEMICI

PER IL

DOTT. ALFREDO MONARI

Aiuto alla Clinica Medica Generale

Le malattie renali furono oggetto di numerose ricerche batteriologiche, ma nessuno osservatore sin qui, almeno che io mi sappia, si occupò di estenderle all'esame del sangue dei nefritici, in preda a intossicamento urinemico.

La cosa è ben diversa per la eclampsia di cui Delore fu il primo a sostenere la natura microbica, opinione che in breve tempo sembrò acquistarsi prove abbastanza sicure. Così Doleris avendo trovato nelle urine di donne albuminuriche un microrganismo, che iniettato nei conigli riproduceva albuminuria, credette poterne derivare (1883) l'origine microbica della sindrome in parola. E Blanc e Fochier (1889) affermarono di avere isolato, dall'orina di eclampsiche, un microbio dotato di alto potere patogeno, capace di provocare convulsioni, lesioni renali, ecc. Favre dagli infarti bianchi della placenta di donna eclampsica, culturò un microrganismo che battezzò col nome di *micrococcus eclampsiae*, e che non era altro, come Hoffmayer provò, che il *proteus vulgaris*. Gerdes trovò un microorganismo patogeno nei reni e nel fegato delle eclampsiche, veramente colonizzato nella placenta (1892). Oui e Sabrazès, in un caso di eclampsia post-partum, ottennero in vita, dal sangue e dalle urine, lo stafilococco albo; e dopo morte, dal sangue del cuore destro, dal

succo polmonare, e dalle urine, questo stesso micrococco, cui si associava nelle culture fatte con urina il *bacterium coli.*

Kaltembach accettando pienamente le conclusioni derivanti da questi dati, cercò di spiegare il meccanismo dell'azione morbosa, ammettendo che l'intervento delle contrazioni uterine valesse a spingere in circolo i prodotti tossici elaborati dai microrganismi nello strato deciduale della placenta.

A questi prodotti formatisi in situ, o nel sangue, attribuirono la parte di principale fattore causale Combermale e Buè, che nei loro esperimenti avevano ottenuto, culturando il secondo, lo stafilococco piogeno albo ed aureo. Favre cercò di confermare tale opinione da un punto di vista assai generale con numerose ricerche sperimentali, sostenendo, come conclusioni delle medesime, che l'eclampsia non è punto un'uremia, sibbene una ptomainemia.

Ma i risultati di altri osservatori cominciarono a far nascere il dubbio, e finirono col portare dapprima a una teoria mista, poi a una nuova teoria unicista, ma fondata su un'ipotesi ben diversa.

Così mentre l'Hagler, e successivamente Doderlein e Chambrelent, dichiararono di non avere avuto che risultati negativi nelle loro indagini, e ad essi si associò Schmorl per non avere constatato che saprofiti e piogeni, provenienti dai processi infiammatori post-puerperali sviluppatisi o nei genitali, o nei polmoni; l'Heryott e l'Haushalter avendo ottenuto due sole volte su nove casi, reperti positivi, si fecero sostenitori di una teoria mista, ritenendo doversi ammettere, sotto il punto di vista etiologico, due forme distinte, e cioè una forma microbica e una tossica. A tale opinione fece eco, fra noi, il Fabbri, ammettendo l'origine infettiva pei casi di eclampsia gravissima, e quella da autointossicazione per i più leggieri, e in Francia, Bar e Renon che su tre casi non ebbero che in un solo lo sviluppo dello stafilococco aureo ed albo da culture del fegato.

La teoria dell'origine tossica non tardò bensì a guadagnare terreno, specialmente dopochè Chambrelent, Azzurrini ed altri ebbero dimostrato il notevole aumento della tossicità del sangue nelle eclampsiche, e in favore di essa si dichiara-

rono quasi tutti i più autorevoli osservatori, quali Schæffer, Pels Leusden, Mya, Herf, Vinay ed altri, accettando così definitivamente le conclusioni già precedentemente formulate, in base ad una analisi critica dei fatti, dal prof. Tibone, fino dal 1894.

Per quanto una simile conclusione definitiva, per una sindrome che ha analogia massima con quella della comune uremia da nefrite, non potesse troppo sedurre, io considerai l'argomento come meritevole di indagine, e in mancanza di un numero sufficiente di casi clinici, mi decisi a studiarlo dal lato sperimentale.

Con questo scopo praticai le tre prime serie di esperienze che vado ad esporre, premettendo poche parole sulla tecnica a cui mi attenni nell'eseguirle.

Adoperai come animali di esperimento i cani ed i conigli, ma prevalentemente quest'ultimi, scegliendo sempre soggetti adulti e sani che avevo cura di acquistare ogni volta dal medesimo allevatore, e che lasciavo per molti giorni in riposo nella stanza loro destinata, nutrendoli abbondantemente con erba fresca e con semola.

Nella prima serie di ricerche provocai l'urinemia con la legatura degli ureteri, nella seconda con l'asportazione dei reni, nella terza ripetei le indagini batteriologiche in animali di controllo adulti e sani.

Per eseguire l'atto operativo, non potendo adoperare anestetici, dovetti limitarmi ad una energica contenzione con l'apparecchio di Zermack, nel quale, per il primo atto operativo, fissavo l'animale sul dorso, e rasato il pelo della porzione anteriore e inferiore del ventre, la nettavo con sapone e acqua, e disinfettavo successivamente con soluzione di sublimato all'1 °/₀₀, e poi con etere solforico. Gli strumenti, prima sfregati ripetutamente con ovatta imbevuta nel medesimo liquido, erano sterilizzati con prolungata ebollizione in soluzione fisiologica di NaCl in cui si bollivano per due volte, e ogni volta per 30′ anche le garze e battufoli di cotone, destinati a scopo protettivo e detersivo.

Ciò premesso, con un'incisione della lunghezza di 3 cm. circa

praticata al di sopra dell'arco del pube, in corrispondenza della linea alba, mettevo allo scoperto la vescica, e rovesciandola in avanti, col soccorso di un portalaccio, o di un lungo ago ricurvo, passavo un filo attorno a ciascun uretere, evitando con ogni cura qualunque lesione di vasi, cosa assai facile nel coniglio, se non si ha molto riguardo, dovendo eseguire l'atto operativo colla massima sollecitudine, per non tenere le parti a contatto dell'aria che il più breve tempo possibile. Legati gli ureteri, e rimessa in posto la vescica, ricucivo la ferita con doppio piano di sutura, e spalmavo la parte corrispondente all'esterno, con collodion all'iodoformio.

Gli animali rimessi in libertà venivano tenuti in osservazione in una stanza separata, ove si lasciavano a loro disposizione cibo e bevanda in abbondanza.

Nella seconda serie di esperienze, la fissazione era fatta sul dorso. La pelle, rasata su tutta la regione dorso-lombare, era disinfettata con lo stesso metodo.

Preferendo una doppia ferita all'incisione anteriore mediana, che essendo l'animale sveglio avrebbe prodotto con certezza fuoriuscita di tutta o quasi la massa intestinale, eseguivo separatamente la asportazione dei due reni, che praticavo mercè una incisione incominciata, a destra subito sotto l'ultima costa, a sinistra un pollice sotto la medesima, immediatamente al davanti delle masse muscolari paravertebrali, ed estesa in basso per 3 cm., circa, fino ad oltrepassare di poco i due poli dell'organo, che nel più dei casi si poteva sentire assai bene attraverso la parete addominale anteriore. Siccome per una ferita così piccola sarebbe stato difficile portar fuori l'organo con le dita, senza trazioni energiche che avrebbero originato, con molta probabilità, delle lacerazioni pericolose, mi servii, come già fecero Vanni e Manzini, di un piccolo cucchiaio di vetro precedentemente sterilizzato con l'ebollizione in soluzione fisiologica di NaCl. Ciascuna ferita era chiusa poi con doppio piano di sutura, e spalmata con collodion iodoformizzato.

Gli animali erano quindi lasciati in libertà nella stanza di osservazione apposita, dove avevano nutrimento e bevanda a piacere.

I. — Urinemia provocata per chiusura degli ureteri

Esperienza I^a. — 21 aprile 1896. — Coniglio del peso di grammi 2210. Temp. rettale 39°.4.

Ore 14.30. — Chiusura degli ureteri col metodo sopra descritto.

Ore 21. — È molto vivace, e corre per la stanza come se non fosse operato. Temp. r. 38°.9.

22 aprile, ore 7. — Si mantiene in ottime condizioni. Ha mangiato dell'erba e bevuto assai. Temp. r. 38°.7.

Ore 20. — Stesso stato. Temp. 38°.6.

23 aprile, ore 7. — È assai abbattuto, e non ha quasi toccato cibo dalla sera avanti. Stimolato reagisce però con molta vivacità, e nel correre non presenta nè tremori, nè paresi. Temp. 37°.5

Ore 21. — Ha bevuto poca acqua, e non si è nutrito affatto. Temp. r. 37°.3.

24 aprile, ore 8. — Abbattimento più grave che nel giorno innanzi. Leggieri tremori e respirazione assai faticosa, ma non periodica. Temp. 36°.8.

Ore 14. — Si è notevolmente aggravato, e presenta dei tremori lievi e continui, specialmente nei muscoli del tronco e del collo. Temp. 36°.6.

Ore 17. — Si trova disteso sul terreno in preda a coma profondo, con respirazione frequentissima, ma non periodica. Stimolato, con forti impressioni dolorose, non reagisce quasi affatto. Temp. 36°.2.

Prevedendo la morte imminente, si uccide. (Ore 74.30′ dall'atto operativo).

Aperto immediatamente il torace col dividere longitudinalmente lo sterno per evitare qualsiasi lesione di vasi, si solleva il cuore ancora completamente avvolto dal pericardio, e con robusti fili di seta si allaccia in corrispondenza dei grossi vasi, immergendolo quindi in una soluzione di sublimato all'1 $^0/_{00}$, nella quale si lascia per 30′.

Completando intanto la necroscopia, non si rileva alcuna alterazione macroscopicamente apprezzabile delle pleure e dei polmoni. Aperto l'addome, nel cavo peritoneale si trova una modica quantità di liquido, di poco superiore a quello che vi si rinviene quasi abitualmente, almeno qui da noi. Il liquido è limpido, di colore citrino pallido, di reazione neutra, e non contiene fiocchi fibrinosi, come non si riesce a constatarne nè sovra le anse intestinali, nè fra le medesime, nè sul peritoneo parietale che ha colore e apparenza perfettamente normali.

Gli ureteri appariscono tortuosi e fortemente distesi da urina. I reni sono aumentati notevolmente di volume per infiltrazione edematosa, cui partecipa anche la capsula. Incisi longitudinalmente, dai bacinetti fuoriesce molto liquido acquoso, un po' torbido. Sulla superficie di taglio, tanto la sostanza corticale che la midollare, sono molto pallide ed infiltrate di

liquido appena colorato in rosso, che trapela facilmente colla pressione. Il fegato molto ricco di sangue ha un colore bruno fosco. La milza non presenta alterazioni macroscopicamente rilevabili. Nulla nello stomaco. Nell'intestino, qui e là lungo il tenue, emorragie puntiformi sottomucose e quantità grandi di muccosità filanti, e verdastre. Sollevando in massa la parete addominale, e rovesciandola in fuori non si nota nè in corrispondenza, nè attorno ai bordi interni della ferita, alcun segno di reazione flogistica.

Dopo 30′, levato il cuore dal bagno di sublimato, e adagiatolo su ovatta imbevuta della medesima soluzione, col termocauterio di Paquelin, si apre prima il ventricolo sinistro poi il destro, e con l'ansa di platino immersa ripetutamente in ciascuna cavità, si praticano culture in tubi di brodo semplice, di brodo glicerinato e zuccherato, di gelatina, d'agar semplice e glicerinato. Le culture in ágar e brodi vengono poste nel termostato alla temperatura di 37°–38° C.; quelle in gelatina si tengono invece in altra stufa alla temperatura di 26° C.

Le culture in brodo semplice e quelle in gelatina, e in agar semplice e glicerinato, rimangono completamente sterili, mentre invece nel brodo zuccherato e in quello glicerinato, dope 30 ore circa, osservasi un distinto intorbidamento, che microscopicamente in preparato semplice, mostrasi dovuto a bacilli isolati, talora aggruppati a due, insieme a scarsi cocchi.

Col fine di meglio studiare la morfologia di questi germi, si fanno numerosi trapianti in varî mezzi nutritivi.

A poco a poco nei trapianti in gelatina vedesi a comparire, sulla superficie del mezzo, una colonia che a guisa di pellicola sottile, grigio-perlacea; dapprima liscia, poi facentesi alquanto rugosa, si estende rapidamente fino ad occupare la superficie di tutto il mezzo nutritivo. La gelatina non è fluidificata. Nei preparati in goccia pendente questa colonia vedesi formata da bacilli in cultura pura, immobili. Fattone invece dei preparati secchi colorati (Oc, 5 H; — Ob. $^1/_{12}$ Imm. Omg. Zeiss), questi bacilli si vedono corti, tozzi, ad estremità piuttosto tronche, talora isolati, talora aggruppati a due o riuniti in maggior numero come formanti dei lunghi filamenti. Dalle culture emana un odore disgustosissimo.

Nei trapianti sulle patate si osservano i seguenti fatti. Nei punti di innesto compaiono ben presto delle colonie, che rapidamente si espandono sul mezzo nutritivo, sotto forma di uno strato grigio giallastro a bordi irregolari, a superficie liscia, la quale però dopo qualche giorno si raggrinza presentando marcate rugosità, mentre la patata acquista all'intorno un colorito bruno verdastro. Il microrganismo si sviluppa benissimo nel latte che al secondo giorno è totalmente coagulato.

Si volle saggiare anche il modo di comportarsi di tale bacillo di fronte alle sostanze colorate, e mi servii a tale uopo del metodo di Gasser. Si fecero, cioè, innesti per infissione e strisciamento su piastre di agar fucsi-

nato, preparate aggiungendo sei-sette goccie di una soluzione acquosa satura sterilizzata di fucsina a un tubo di agar, e dopo alcuni giorni si notò una parziale decolorazione del mezzo nutritivo. Questo microrganismo quindi, per tali suoi caratteri, poteva riportarsi a una delle varietà di *bacterium coli*, di cui recentemente SCKATTENFROH ha descritto così bene le apparenze morfologiche, e le proprietà biologiche.

Nei trapianti in agar vedonsi comparire, dopo parecchie ore, colonie a forma di piccoli dischi, con margini regolari, senza produzioni di pigmento, che a poco a poco confluiscano. In preparato semplice (Oc. 5 H — Ob. $^1|_{12}$ Imm. Omg. Zeiss) si trovano costituiti da una cultura pura di stafilococco. La gelatina è solo lentamente fluidicata; emana da tutte le culture un odore acido, caratteri più che sufficienti per identificare questo microrganismo con lo stafilococco piogeno albo.

Le culture contemporaneamente praticate col liquido peritoneale dànno sviluppo ad un cocco e ad un bacillo, aventi caratteri morfologici e culturali identici ai precedentemente descritti.

Esperienza 2ª. — 25 aprile 1896. — Coniglio del peso di grammi 1880. Temp. r. 39°.6.

Ore 14.30. – Chiusura degli ureteri.

Ore 21. — Temp. 38°.2. Condizioni buone.

26 aprile, ore 8. — Temp. 37°.8. Un po' assopito, ma ha mangiato assai.

Ore 20. — Temp. 37°.1. È più sveglio, corre per la stanza ed ha mangiato un po' di erba.

27 aprile, ore 8. — Temp. 37°. Stato generale buono.

Ore 22. — Temp. 36°.2. È nuovamente abbattuto ed ha respirazione dispnoica.

28 aprile, ore 7. — Trovatolo moribondo non si perde tempo ad aprire il torace e asportare il cuore col solito metodo, immergendolo in soluzione di sublimato all' 1 $^0|_{00}$. (Ore 64. 30′ dopo la operazione).

Pleura e polmoni in istato di assoluta integrità. Piccola quantità di liquido nel cavo peritoneale, ma senza nessuna traccia di peritonite. Reni fortemente aumentati di volume ed edematosi. Ureteri dilatatissimi, specie il destro.

Con il sangue contenuto nella cavità cardiaca si fanno culture nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo trent' ore circa, la coltura in brodo glicerinato è molto torbida, e in preparati semplici si mostra formata prevalentemente da un micrococco, che si presenta eccezionalmente isolato, il più spesso riunito in piccoli ammassi disposti bizzarramente. Ad esso si associa, ma in proporzioni minime un bacillo corto, a estremità piuttosto tronche, anch'esso in qualche punto isolato, in qualche altro riunito in catenelle di due o più.

Fatto un trapianto in agar, disposto a becco di flauto, si sviluppano delle colonie puntiformi, bianche, che prontamente confluiscono, e che si trovano formate da uno stafilococco. Nelle culture di trapianti su patate si sviluppa invece un bacillo, che presenta caratteri identici a quello descritto nella esperienza precedente.

Esperienza 3ª. — 26 aprile 1896. — Coniglio del peso di grammi 1600. Temp. r. 38°.4.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 22. — Temp. 38°. È vivace, come se non fosse operato.

27 aprile, ore 7. — Ha consumato molta erba, e corre per la stanza con grande vivacità.

Ore 20. — Temp. 37°.5. Stesse condizioni.

28 aprile, ore 7. — Temp. 36°.5. L'animale è molto abbattuto e dispnoico, sta rannicchiato in un angolo, toccato si muove a stento.

Ore 12. — Temp. 36°. Trovasi disteso sul terreno, con tremiti convulsivi. È quasi insensibile agli stimoli dolorosi, per cui si uccide (45 ore dopo l'atto operativo).

Aperto rapidamente il torace e l'addome, si riscontra in quest'ultimo una modica quantità di liquido citrino, con cui si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Subito dopo, previa allacciatura dei grossi vasi, si asporta il cuore in massa, e lasciato per mezz'ora nel bagno solito di sublimato, si praticano in seguito innesti col sangue contenuto nelle cavità ventricolari, negli abituali mezzi nutritivi.

L'esame del cadavere non fa rilevare alcun fatto importante nel cavo toracico. Il fegato è congesto, gli ureteri molto dilatati, i reni edematosi. Non vi è segno di flogosi nè nel peritoneo, nè attorno alla ferita.

Tanto le culture del sangue, come quelle del liquido peritoneale rimangono sterili perfettamente.

Esperienza 4ª. — Coniglio del peso di grammi 1890. Temp. 39°.8.

Ore 8.30. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 20. Temp. 38°.6. Condizioni buone; mangia assai.

13 maggio, ore 8. — Temp. 37°.1. Lo stato generale è invariato.

Ore 20. - Temp. 37°.2. Condizioni solite.

14 maggio, ore 7. — È in preda a moti convulsivi, che si succedono con una certa frequenza. La respirazione è frequentissima, e molto laboriosa. Temp. r. 35°.2.

Nel timore che possa avvenire le morte in nostra assenza, si uccide (46.30' dopo l'atto operativo).

Pleura e polmoni sani. Nessuna traccia di liquido nel cavo addominale, nè segni di reazione flogistica all'intorno della ferita. Reni molto voluminosi in preda ad edema, ureteri fortemente dilatati.

Col sangue del cuore si praticano innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo due giorni il brodo glicerinato è già totalmente torbido, e in preparato semplice la cultura apparisce formata quasi in totalità da un cocco, al quale si associa un bacillo corto e tozzo, ma in proporzioni minime. Nelle culture in agar semplice, si sviluppa alla superficie una colonia vegetante sotto forma di pellicola sottile bianco grigiastra che, in preparato semplice, si vede formata da un bacillo in cultura pura, avente caratteri analoghi a quello ottenuto nelle precedenti esperienze.

Fatto poi un trapianto in agar, disposto a becco di flauto, dalla cultura in brodo glicerinato si ha lo sviluppo del solo stafilococco. Il trapianto dall'agar dà invece sviluppo a una colonia che rapidamente, a forma di stràterello liscio, più tardi rugoso, si estende su tutta la superficie del mezzo nutritivo, e che in preparato semplice si vede formata esclusivamente da una forma bacillare, identica alla sovra descritta.

I caratteri della cultura su patate, di questo bacillo, non diversificano in nulla da quelli osservati nelle altre esperienze. Le culture in mezzi fucsinati dànno una parziale decolorazione già al 2° giorno. Quelle nel latte inducono una coagulazione completa, presso a poco nel medesimo tempo. La gelatina non è fluidificata.

Da tutte le culture emana un odore sgradevolissimo.

Esperienza 5ª. — 28 maggio 1896. — Coniglio del peso di grammi 1890. Temp. 39°.5.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 22. — Temp. 38°.4. Condizioni generali eccellenti.

29 maggio, ore 8. — Temp. 37°.6. È sempre molto vivace, ed ha consumato una discreta quantità di erba.

Ore 14. — È un po' abbattuto e lasciato a sè, se ne sta rannicchiato in un angolo, ma se si stimola scappa con prontezza, e senza presentare alcun disturbo nella locomozione.

Ore 21. — Di quando in quando tutto il corpo è invaso da scosse, ora più, ora meno forti, che si ripetono a intervalli diversamente frequenti. Notevole prostrazione. Temp. r. 36°.2. Respirazione molto frequente, e laboriosa.

Ore 23. — Si trova disteso sul terreno respirando affannosamente. Alzandolo ricade di fianco dopo aver fatto qualche tentativo per sostenersi. Ha respirazione frequentissima, ma non periodica. Temp. r. 35°.6. Prevedendo una prossima fine, si uccide (32 ore dopo l'atto operativo).

Nessun fatto degno di nota nel cavo toracico. Nell'addominale liquido citrino in copia discreta. Fegato congesto; ureteri molto dilatati; reni grossi ed edematosi. Nessuna traccia di infiammazione di contro alla ferita, nè in altro punto del peritoneo.

Tanto col sangue del cuore, quanto col liquido pleurico e peritoneale si fanno culture coi soliti mezzi nutritivi. Dopo due giorni il brodo gli-

cerinato è già molto torbido e, in preparato semplice, mostra contenere uno stafilococco e un bacillo molto raro. Fatto un trapianto in agar a becco di flauto, si osservano svolgersi rapidamente alla superficie del mezzo nutritivo tante piccole colonie bianche, puntiformi, che microscopicamente si vedono costituite da uno stafilococco. Le colonie si mostrano sotto forma di piccoli dischi, con margini regolari, senza produzione di pigmento. La gelatina è solo lentamente fluidificata.

Dalle culture emana un odore acido. Nei trapianti in patate si sviluppa solamente il bacillo, che presenta microscopicamente caratteri analoghi a quelli delle osservazioni precedenti.

Esperienza 6ª. — 5 giugno 1896. — Coniglio del peso di grammi 1400. Temp. r. 39°.4.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 21. — Temp. r. 38°.9. È così vispo che non sembra nemmeno operato.

6 giugno, ore 8. — Temp. 37°.8. È sempre molto vivace ed ha mangiato dell'erba.

Ore 20. — Temp. 36°.7. Continua in buone condizioni.

7 giugno, ore 7. — È alquanto abbattuto.

Ora 9. — Si trova disteso sul suolo in preda a grave prostrazione generale. Stimolato non riesce a muoversi; messo in piedi, ricade abbandonato. Ha respirazione molto laboriosa e frequente. Temp. r. 35°.3. Si uccide (42 ore dopo l'atto operativo).

All'esame del cadavere si trova modica quantità di liquido nel cavo pleurico, e più abbondante nel peritoneale; reni molto edematosi; ureteri dilatati; fegato congesto. Nessuna traccia di flogosi, nè di contro, nè attorno alla ferita.

Col sangue del cuore, e con i liquidi pleurico e peritoneale, si praticano culture nei soliti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimangono sterili, eccetto quelle in brodo semplice, in cui, già al 2° giorno, si nota un notevole intorbidamento, che l'esame microscopico mostra dovuto allo sviluppo di uno stafilococco in cultura pura.

Il trapianto in agar a becco di flauto riproduce la medesima forma, che per i suoi caratteri a piccoli dischi, con margini regolari, senza produzione di pigmento, fluidificazione lenta della gelatina, e odore acido, si fa al solito riconoscere costituito dallo stafilococco piogeno albo.

Le culture del liquido pleurico e peritoneale riproducono lo stesso microrganismo.

Esperienza 7ª. 6 giugno 1896. — Coniglio del peso di grammi 1300. Temp. r. 39°.

Ore 16. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 21. — Temp. 38°.1. Condizioni buonissime.

17 aprile, ore 7. — Temp. 37°.6. È vivace, corre per la stanza; si è nutrito abbondantemente.

Ore 20. — Temp. 37°.1. È alquanto abbattuto, non si nutre.

18 aprile, ore 7. — Si trova disteso sul suolo in preda a coma profondo. Non reagisce agli stimoli dolorosi. Vedendo imminente l'esito letale, si uccide. (39 ore dopo l'atto operativo).

Asportato lestamente il cuore in massa si pone nella vaschetta con sublimato.

Nulla alle pleure e polmoni. Piccola quantità di liquido chiaro nel cavo addominale. Fegato congesto; reni turgidi ed edematosi; ureteri dilatati.

Con il sangue tanto del ventricolo destro, che del sinistro, si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimangono completamente sterili.

Esperienza 8ª. — 18 giugno 1896. — Coniglio del peso di grammi 1280. Temp. r. 39°.7.

Ore 10.30'. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 21. — Temp, 38°.3. È molto vivace ed ha mangiato.

19 giugno, ore 8. — Temp. 37°.6. Condizioni generali sempre buone, ma ha mangiato pochissimo.

Ore 13. — È un po' abbattuto ed ha respirazione dispnoica. Temp. r. 36°.4.

Ore 16. — Quantunque un' ora avanti fosse in condizioni discrete, si trova ora moribondo. (Temp. r. 34°.1). Si finisce di ucciderlo (29 ore e 30' dopo l'atto operativo).

Aperta la cavità toracica si allaccia e asporta subito il cuore, che vien posto a bagno nella solita soluzione di sublimato.

Nessuna lesione apprezzabile del polmone.

Nel peritoneo, una moderata quantità di liquido citrino, limpido. Nessuna traccia di peritonite, nè di reazione flogistica, in corrispondenza o attorno alla ferita.

Congestione notevole del fegato, e le abituali alterazioni dei reni e degli ureteri.

Le culture del sangue in brodo glicerinato si intorbidano rapidamente per sviluppo abbondantissimo di un micrococco, al quale si associa, in proporzioni minime, una forma bacillare perfettamente identica, per apparenze morfologiche, a quella ottenuta nella maggior parte delle esperienze precedenti.

I trapianti in agar disposta a becco di flauto, sviluppano colonie puntiformi di un bianco grigiastro, che in preparato semplice si vedono costituite da uno stafilococco in cultura pura. Questo stafilococco, ha caratteri culturali e morfologici affatto identici a quelli notati nelle osservazioni precedenti.

Nel trapianto su patate si sviluppa invece l'abituale forma bacillare.
Le culture tanto del liquido pleurico che peritoneale sviluppano i medesimi germi.

Esperienza 9ª. - 2 maggio 1897. — Coniglio del peso di grammi 1000. Temp. r. 38°.7.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 21. – Temp. r. 38°. Buonissime condizioni.

3 maggio, ore 7. — Temp. 37°. È un po' meno vivace di prima, però si è cibato.

Ore 20. — Temp. 36°.5. Alquanto abbattuto e dispnoico; stimolato però sfugge con una certa vivacità.

4 maggio, ore 9. — Non ha toccato cibo, presenta scosse convulsive diffuse. Vi è paralisi del treno posteriore. Prevedendo vicina la morte si uccide (42 ore dopo l'atto operativo).

Aperto rapidamente il torace e asportato il cuore, si immerge nella soluzione di sublimato.

All'esame del cadavere, si trovano piccole quantità di liquido chiaro nel cavo pleurico; polmoni sani. Nel cavo addominale discreta quantità di trasudato citrino chiaro. Fegato congesto, reni turgidi, ureteri dilatati.

Col sangue del cuore, e coi liquidi pleurico e peritoneale, si praticano innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo circa 40 ore il brodo glicerinato è torbido nelle culture fatte in tale mezzo col sangue. In preparato semplice, l'intorbidamento mostrasi dovuto a un cocco talora isolato, talora riunito a due. Fatto un trapianto in agar disposto a becco di flauto, ben presto si sviluppa una colonia sotto forma di bollicine biancastre, che poi confluiscono. Microscopicamente la colonia si riconosce dovuta a uno stafilococco.

Anche nelle culture dei liquidi pleurico e peritoneale si sviluppa lo stesso stafilococco. La gelatina è lentamente fluidificata, e dai tubi di innesto emana un odore acido.

Esperienza 10ª. — 12 maggio 1897. — Coniglio del peso di grammi 1600. Temp. r. 39°.2.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 21 – Temp. 38°. Molto vivace, come se non fosse operato.

13 maggio, ore 7. — Si è nutrito assai.

Ore 20. — Ha leggera dispnea, mostrasi meno vivace, però toccato fugge sebbene lentamente.

14 maggio, ore 8. — Trovasi disteso sul terreno in preda a coma. Sollevato ricade. Si uccide tosto (41 ore dopo l'atto operativo).

Aperto sollecitamente il torace si asporta il cuore.

All'esame del cadavere, si riscontra piccola quantità di liquido chiaro

nelle pleure, polmoni sani. Scarso trasudato citrino nel cavo addominale. Fegato congesto; ureteri dilatati specie il sinistro, reni grossi per edéma.

Col sangue del cuore, e coi liquidi pleurico e peritoneale, si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimangono sterili.

Esperienza 11ª. — 21 maggio 1897. — Coniglio del peso di grammi 1970. Temp. r. 38°.9.

Ore 16. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 20. — Temp. 37°.9. Condizioni buonissime.

30 maggio, ore 7. — Temp. 37°.6. Molto vivace, corre per la stanza, si è nutrito assai.

Ore 20. — Ha minore vivacità, però non è abbattuto, nè dispnoico.

31 maggio, ore 8. — Sta rannicchiato in un angolo, toccato reagisce lentamente, è fortemente dispnoico.

Ore 12. — Trovasi disteso al suolo, con evidente paralisi del treno posteriore. Reagisce agli stimoli dolorosi con movimenti leggieri del capo. Prevedendo una prossima fine si uccide (44 ore dopo l'atto operativo).

Asportando subito il cuore col solito metòdo, sì trovano pleure e polmoni sani. Nel cavo addominale piccola quantità di liquido chiaro citrino. Fegato congesto; reni turgidi per edema, ureteri dilatati.

Col sangue del cuore si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo 38 ore circa nei brodi glicerinato e zuccherato, si manifesta un marcato intorbidamento. Microscopicamente, in preparato semplice, si riscontra una cultura pura di bacilli aventi caratteri analoghi a quelli ottenuti dalle osservazioni precedenti. Questo bacillo si comporta pure analogamente a quello descritto per riguardo ai vari mezzi nutritivi. Decolora parzialmente i mezzi colorati, coagula il latte e non fluidifica la gelatina. Si sviluppa rigogliosamente sulle patate nel modo descritto.

Esperienza 12ª. — 29 maggio 1897. — Coniglio del peso di grammi 1600. Temp. 39°.2.

Ore 17. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 21. — Temp. 38°.2. Non pare operato, corre per la stanza con grande vivacità.

30 maggio, ore 7. — Si è nutrito assai, continuano le condizioni di benessere come ieri.

Ore 20. — È meno vivace, però toccato corre lestamente.

31 maggio, ore 7. — Trovasi in preda a tremore generale ricorrente, con respirazione molto faticosa, ma non periodica. Non ha toccato cibo.

Ore 10. — È comatoso; in vista di una fine imminente si uccide (41 ore dopo l'atto operativo).

Si asporta rapidamente il cuore come al solito. Pleure e polmoni sani.

Modica quantità di liquido citrino nel cavo addominale. Fegato congesto, reni edematosi, ureteri dilatati.

Col sangue del cuore, e col liquido peritoneale, si praticano innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo circa 30 ore le culture in brodo glicerinato appaiono torbide. Microscopicamente si osservano, in preparato semplice, numerosi cocchi quasi costantemente riuniti in piccoli ammassi. Nei trapianti si sviluppa in tutti lo stafilococco piogeno albo.

Esperienza 13ª. — 10 giugno 1897. — Coniglio del peso di 1580 grammi. Temp. 38°.7.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 21. — Temp. 38°.1. Condizioni buonissime.

17 giugno, ore 7 — Temp. 37°.7. È molto vivace, si è nutrito.

Ore 20. — Temp. 37°.2. Ha respirazione faticosa, ma si mantiene abbastanza vivace.

18 giugno, ore 7. — Temp. 36°.5. — Si trova quasi disteso sul terreno in uno stato soporoso, da cui è risvegliato ogni tanto da scosse generalizzate assai intense. Respirazione faticosissima, ma non periodica.

In questo stato rimane fino alle 12. A quest'ora notevole aggravamento. Temp. r. 35°.5. Prevedendo la fine imminente si uccide (45 ore dopo l'atto operativo) asportando subito il cuore.

Pleura e polmoni sani. Mediocre quantità di liquido citrino nel ventre. Fegato congesto, reni turgidi ed edematosi: ureteri dilatati. Nè sulla superficie peritoneale; nè di contro alla ferita vedonsi segni di reazione infiammatoria.

Con il sangue del cuore si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo 30 ore il brodo glicerinato è molto torbido. In preparato semplice si vedono microscopicamente uno stafilococco, e qualche raro bacillo.

Fatti dei trapianti in agar si ha lo sviluppo di uno stafilococco in cultura pura, che ha caratteri culturali analoghi a quelli osservati nelle osservazioni precedenti; nei trapianti su patate invece si sviluppa solo, ed in cultura pura, la forma bacillare, che per caratteri microscopici e culturali non differisce dalla riscontrata abitualmente. Coagula cioè il latte, non fluidifica la gelatina, e decolora i mezzi nutritivi colorati colla fucsina, emanando un odore penetrantissimo.

Esperienza 14ª. 16 giugno 1897. — Coniglio del peso di gram. 1650. Temp. 38°.8.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 23. — Temp. 38°. Stato buonissimo e mangia.

17 giugno, ore 7. — È molto vivace; si è nutrito assai. Spaventato fugge velocemente.

Ore 20. — È abbattuto. Ha dispnea, però leggiera e non periodica.

18 giugno, ore 7. — Si trova rannicchiato in un canto con il capo disteso sul suolo. Ha leggiere scosse, e reagisce poco agli stimoli. Si uccide (40 ore dopo l'atto operativo) asportando subito il cuore.

Piccola quantità di liquido nella pleura, polmoni sani.

Scarso trasudato nel cavo peritoneale. Fegato congesto, reni turgidi, ureteri dilatati.

Si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi col sangue del cuore, e con i liquidi pleurico e peritoneale.

Tutte le culture rimangono sterili.

Esperienza 15ª. — 30 giugno 1896. — Cane del peso di kilogrammi 4.500.

Ore 15. — Allacciatura degli ureteri, con metodo identico a quello seguito nei conigli.

Ore 19. — Condizioni buone. Mangia.

8 luglio, ore 7. — Stesso stato. Continua a nutrirsi.

Ore 19. — Condizioni invariate.

2 luglio, ore 7. — È meno vivace di ieri sera.

Ore 19. — Presenta durante il cammino tremolio generale, più marcato negli arti posteriori. Non rifiuta il cibo, ma ne prende pochissimo.

3 luglio, ore 7. — È assai abbattuto. Costretto a camminare lo fa, ma con stento. Dopo poco è preso all'improvviso da un tremore generale, che aumentando di intensità lo costringe a cadere al suolo. Susseguono movimenti convulsivi clonici di notevole forza, e che durano circa 10'. Alla loro cessazione, tien dietro un breve periodo di coma. Passati circa 20' si rianima, cammina lentamente per la paresi e i tremori dei muscoli degli arti posteriori.

Gli accessi convulsivi si ripetono diverse volte nella giornata a intervalli ora più, ora meno lunghi.

4 luglio, ore 7. — Si trova disteso a terra in preda a convulsioni, caratterizzate da scosse improvvise, specie degli arti posteriori e tremore di tutto il capo. Di tanto in tanto emette un gemito. Questi accessi durano circa un quarto d'ora, ma anche dopo cessati, l'animale rimane completamente prostrato e in preda a tremori generalizzati.

Verso le ore 14 subentra uno stato comatoso ininterrotto fino alle 15, ora in cui si uccide (96 ore dopo l'atto operativo).

Nulla di notevole nel torace; quantità grande di liquido chiaro nel ventre; ureteri molto dilatati; reni edematosi e fortemente aumentati di volume. Fegato congesto. Nessun segno di flogosi nè in corrispondenza, nè attorno alle ferite.

Col sangue del cuore si fanno innesti nei medesimi mezzi nutritivi adoprati pei conigli.

Dopo 24 ore il brodo è torbido, e microscopicamente, in preparato semplice, presenta in cultura pura cocchi eccezionalmente isolati, il più spesso

formanti piccoli gruppetti. Il trapianto in agar, disposto a becco di flauto, sviluppa colonie puntiformi bianche che confluiscono rapidamente, e che in preparato semplice si vedono formate esclusivamente del medesimo stafilococco.

Esperienza 16ª. — 9 luglio 1896. — Cane del peso di kilogrammi 4.500.

Ore 10. — Allacciatura degli ureteri.

10 luglio. — Condizioni generali soddisfacentissime. Si nutrisce assai.

11 luglio. — Lo stato generale è sempre buono; l'animale si mostra vivace, e non rifiuta l'alimento, ma di quando in quando, senza alcuna causa che valga a provocarle, presenta delle scosse muscolari, specialmente nel treno posteriore.

12 luglio. — È sempre vivace e non rifiuta il cibo, ma ad intervalli più o meno ravvicinati è preso improvvisamente da attacchi convulsivi di carattere clonico-tonico, ora della durata di pochi secondi, ora anche di vari minuti, che il più spesso si arrestano bruscamente con vomito prolungato di avanzi di cibo, e in prevalenza di un liquido spumoso e filante di colorito verdastro.

Alle ore 16 essendosi gli attacchi convulsivi resi molto intensi e frequenti con respirazione dispnoica, si uccide (78 ore dopo l'atto operativo).

La necroscopia, mette in evidenza una moderata quantità di liquido nel cavo peritoneale. Reni aumentati di volume e fortemente edematosi. Ureteri assai dilatati e tortuosi. Fegato congesto. Nessuna traccia di infiammazione, nè in corrispondenza, nè attorno alla ferita ipogastrica. Nulla di notevole nel torace.

Col sangue del cuore, e col liquido peritoneale, si fanno culture nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo 4 giorni, solo nelle culture in brodo si ha segno di un risultato positivo. Esaminato il prodotto, in preparati semplici, si constata lo sviluppo, in cultura pura, di uno stafilococco che per i suoi caratteri si identifica con lo stafilococco piogeno albo.

Trapianti in brodo glicerinato e zuccherato, e in agar glicerinato, riproducono lo stesso microrganismo allo stato di purezza.

Le culture su patate sviluppano pure rapidamente una colonia formata dallo stesso stafilococco, biancastra, a margini regolari che prestamente ricopre tutta la superficie del mezzo nutritivo.

Esperienza 17ª. — 11 giugno 1897. — Cane del peso di kgr. 5.

Ore 10. — Allacciatura degli ureteri col solito metodo.

Ore 20. — Non pare operato, corre indifferentemente per la stanza.

12 giugno. — Mangia avidamente, ed è festoso.

Ore 20. — Chiamato accorre come se fosse sano e si ciba.

13 giugno, ore 7. — Stesse condizioni di ieri sera.

Ore 20. — Mostrasi un po' abbattuto.

14 giugno, ore 7. — È prostrato e un po' dispnoico; si nutre a stento; dalla bocca gli cola saliva schiumosa, verdastra.

Ore 20. — Nel pomeriggio di oggi ha avuto due attacchi convulsivi della durata di circa un quarto d'ora, caratterizzati da caduta al suolo con gemiti, emissione di saliva dalla bocca, tremori generalizzati. A tratti si è riavuto mostrandosi fortemente abbattuto e dispnoico.

15 giugno, ore 10. — Gli attacchi convulsivi si sono ripetuti nella notte Ora trovasi disteso al suolo in profondo coma con respiro faticosissimo, ma non periodico. Prevedendo la fine imminente si uccide (96 ore dopo l'atto operativo).

Nulla nel cavo toracico. Nel cavo addominale una scarsa quantità di liquido citrino, perfettamente limpido. Fegato congesto; reni edematosi, ureteri dilatati. Nessun segno di infiammazione nella ferita, nè attorno ad essa.

Col sangue del cuore si praticano innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimangono completamente sterili.

Esperienza 18ª. — 12 giugno 1897. — Cane del peso di kilog. 4. 600.

Ore 10. — Allacciatura degli ureteri.

Ore 20. — È molto lesto, come se non fosse operato.

13 giugno, ore 7. — Condizioni come di animale sano, mangia con avidità.

Ore 20. — Stato invariato; chiamato accorre festoso.

14. giugno, ore 7. — È meno vivace di ieri, chiamato si muove assai trepidamente. Non prende cibo quasi affatto.

Ore 20. — Abbattimento più pronunziato; sta quasi sempre sdraiato emettendo talora dei gemiti.

15 giugno, ore 7. — Al mattino si trova in preda ad un attacco convulsivo, cui seguono dei tremori generali. A intervalli dalla bocca cola abbondante saliva verdastra.

Ore 18. — Ha avuto, durante il giorno, parecchi attacchi convulsivi. Ora è comatoso. Si uccide stante l'imminente pericolo (80 ore dopo l'atto operativo).

Nel cavo toracico nulla di notevole.

Fegato congesto; reni turgidi ed edematosi, ureteri dilatati. Nessun segno di reazione flogistica nè nel peritoneo, nè di contro alla ferita.

Col sangue contenuto in tutti e due i ventricoli si praticano innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo 36 ore il brodo glicerinato appare torbido, per sviluppo abbondante di un bacillo avente caratteri analoghi a quelli riscontrati nelle esperienze precedenti.

Anche nei trapianti mantiene quest' identità di caratteri.

Coagula il latte, non fluidifica la gelatina, decolora parzialmente i

mezzi nutritivi colorati con soluzione di fucsina (prova di Gasser), cresce rigogliosamente sulle patate a guisa di strato grigio-perlaceo a superficie liscia, ma che poi diventa rugosa con bordi irregolari.

Da tutte le colonie emana un odore disgustosissimo.

II. — Urinemia provocata coll'asportazione dei reni.

Esperienza I^a^. — 21 aprile 1896. — Coniglio adulto del peso di gr. 1880. Temp. r. 39°.7.

Ore 15.30. — Asportazione dei reni col metodo già descritto.

Ore 21. — È in buone condizioni, però non mangia.

22 aprile, ore 7. — Temp. r. 37.° Corre per la stanza ed ha mangiato assai.

Ore 13. — Sta rannicchiato in un canto e, anche se stimolato, non si muove che con lentezza, e spesso quasi barcollando. Non mangia.

Ore 23. — La Temp. r. è 34°.5. L'animale è in preda a coma. Solo di quando in quando si notano dei brevi tremolii del capo. La respirazione è dispnoica, ma non periodica.

Prevedendo una morte imminente, si uccide l'animale con un colpo sulla nuca (32 ore dopo l'operazione), e aperta la cassa toracica, si allacciano rapidamente i grossi vasi in vicinanza del cuore, che, lasciando intatto il pericardio, viene asportato in massa ancora palpitante, e posto in una vaschetta ripiena di una soluzione di sublimato al 2°/₀₀.

L'esame necroscopico dimostra piccola quantità di liquido citrino, limpido in ambedue i cavi pleurici. Polmoni sani. Nulla di notevole nel cavo addominale, tranne un forte grado di congestione epatica. Nessun segno di reazione flogistica in corrispondenza delle ferite, nè in vicinanza delle medesime.

Dopo che il cuore è rimasto immerso per circa 30' nella soluzione di sublimato, si afferra con pinze abbruciate ripetutamente alla lampada, e si posa sopra una lamina di vetro, coperta di carta bibula previamente bagnata nella soluzione di sublimato. Col termo-cauterio di Paquelin si aprono quindi in 2 tempi i ventricoli, e col sangue delle 2 cavità, si fanno innesti separatamente nei soliti mezzi nutritivi, (brodo semplice, brodo glicerinato e zuccherato, gelatina, e agar semplice e glicerinato). Le culture in agar e brodo vengono poste nel termostato alla Temp. di 37°-38°, quelle in gelatina si mantengono invece in altra stufa alla Temp. di 26°.

Dopo 48 ore il brodo zuccherato appare molto torbido, e in preparato semplice si osservano in cultura pura, dei bacilli corti, tozzi ad estremità piuttosto tronche. Alcuni aggruppati a 2, altri riuniti in maggior numero e come formanti dei filamenti assai lunghi.

A poco a poco poi sul mezzo nutritivo si va formando una pellicola

sottile grigio-perlacea, dapprima liscia, poscia presentante rugosità analoga per caratteri macroscopici, a quella che ha coperto la superficie della gelatina, nella quale, pure in preparato semplice, si riscontra lo stesso bacillo, sempre in cultura pura

Da questa cultura si fa un trapianto in agar disposto a becco di flauto, e dopo pochi giorni si osserva lo sviluppo di una colonia che produce sul mezzo nutritivo una pellicola grigio-biancastra, simile a quella sviluppatasi nella cultura madre, mentre in preparato semplice, si constata lo sviluppo di bacilli aventi tutti i caratteri dei sopra descritti.

Questo bacillo non fluidifica la gelatina. Dalle culture in tutti i diversi mezzi nutritivi emana un odore penetrante, disgustoso.

Praticati innesti sulle patate con la cultura di trapianto, dopo 24 ore si osservano nei punti di infissione delle colonie, che rapidamente si espandono sul mezzo nutritivo, sotto forma di uno strato grigio-giallastro, a bordi irregolari, a superficie liscia, che però dopo qualche giorno si raggrinza, presentando marcate rugosità, mentre la patata acquista all'intorno un colorito bruno verdastro.

Il microrganismo si sviluppa benissimo nel latte, che al secondo giorno è totalmente coagulato. Gli innesti nei mezzi colorati, conforme al metodo di Gasser, dànno la parziale decolorazione osservata nei casi precedenti.

Esperienza 2ª. — 19 maggio 1896. — Coniglio del peso di grammi 1225. Temp. r. 39°.7.

Ore 8. — Asportazione dei reni.

L'animale non mostrò avere risentito gran che dell'atto operativo.

Ore 18. — Temp. 37°. 6. Si trova in preda a un certo abbattimento.

20 maggio, ore 10. — La prostrazione è andata successivamente aumentando. Ora riesce assolutamente impossibile il risvegliarlo. Temp. r. 35°. 6. Si uccide (26 ore dopo l'atto operativo), e asportato il cuore in massa col metodo indicato, si pone in bagno in soluzione di sublimato al 2 °/₀₀.

L'esame della cavità toracica non mette in evidenza alcuna alterazione, nè delle pleure, nè del polmone. Nel peritoneo scarsissima quantità di liquido citrino, nessun segno di infiammazione in corrispondenza, nè in vicinanza delle ferite.

Col sangue del cuore si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo 50 ore circa si ha notevòle intorbidamento del brodo zuccherato, la cui superficie apparisce ricoperta da una specie di patina biancoperlacea, dello spessore di un velo delicatissimo, dal quale si staccano, con l'agitazione del tubo, dei piccoli fiocchetti biancastri. In preparato semplice si distinguono, in cultura pura, dei bacilli corti e tozzi, talora isolati, talora aggruppati a 2 o più, che presentano in complesso caratteri identici a quelli ottenuti nella prima esperienza.

Anche il loro modo di comportarsi rispetto ai diversi mezzi nutritivi non è differente. Così pei trapianti in agar disposto a becco di flauto, si osserva lo sviluppo rapido di una colonia che a guisa di straterello sottile, bianco grigiastro, a bordi irregolari, occupa la superficie del mezzo nutritivo, mantenendosi liscia per alcuni giorni e divenendo successivamente rugosa.

Le culture in patata dànno pure rapidamente (circa 20 ore) sviluppo di numerose colonie, aventi le medesime apparenze morfologiche e un colorito biancastro, mentre all'intorno la superficie della patata stessa diviene bruno-verdastra. La gelatina non è fluidificata, il latte coagula completamente al 2° giorno. Da tutte le culture emana un odore disgustosissimo; solo quelle in agar fucsinato appariscono un po' meno decoloranti.

Esperienza 3ª. — 28 maggio 1896. Coniglio del peso di grammi 1880.

Ore 14. — Temp. r. 39°.7. Asportazione dei reni.

Ore 22. — Temp. r. 38°.5. L'animale è molto vivace, ma non ha mangiato.

29 maggio, ore 7. – T. 36°.2. Condizioni buone.

Ore 14. — È in preda a movimenti convulsivi generali, che compariscono ad intervalli, e che non mancano di presentarsi se si tenta di farlo camminare.

Ore 17. — Stato di abbattimento profondo, respirazione affannosa, ma non periodica. Temp. 35°.1. Vedendo prossima la morte, nel sospetto di non poterla presenziare, si provoca con un colpo brusco sulla nuca (27 ore dopo l'atto operativo).

Nulla di notevole nè nel cavo toracico, nè nell'addominale. Fegato assai congesto. Nessun segno di reazione infiammatoria delle ferite.

Col solito metodo si praticano culture dal sangue del cuore, nei medesimi mezzi nutritivi.

Dopo due giorni tanto il brodo glicerinato che quello zuccherato, appariscono fortemente intorbidati, con superficie ricoperta di uno straterello bianco-grigiastro, analogo macroscopicamente a quello descritto nelle culture precedenti. In preparato semplice, la colonia si mostra formata da bacilli, in cultura pura, aventi tutti i caratteri di quelli ottenuti nelle altre esperienze.

Si constata pure identità anche rapporto al modo di comportarsi nei diversi mezzi nutritivi. Difatti fattone un trapianto in agar, disposto a becco di flauto, si sviluppa rapidamente una colonia che presto ricopre la superficie del mezzo, sotto l'aspetto di pellicola bianco grigiastra, liscia, che invecchiando si increspa. Analogo sviluppo rapido si ha con le culture in patata, il latte coagula presto; la gelatina non fluidifica; dalle culture emana un odore penetrante, e in quelle fatte in mezzi colorati, si ha parziale decolorazione.

Esperienza 4ª. — 5 giugno 1896. — Coniglio del peso di grammi 1360. Temp. r. 39°.3.

Ore 14. — Asportazione dei reni.

Ore 21. — Temp. 38°.2. Condizioni generali ottime.

6 giugno, ore 8. — Temp. 37°.4. Ha mangiato; ed è assai sveglio.

Ore 20. — Leggieri attacchi convulsivi a intervalli molto distanti l'uno dall'altro.

Ore 23. — Leggiero stato di abbattimento. I fenomeni convulsivi sono scomparsi. La respirazione è affannosa, ma non periodica. Temp. r. 35°.6.

7 giugno, ore 6. — Coma profondo. Temp. r. 34°.7. Si uccide (40 ore dopo l'asportaziene dei reni).

Pleure e polmoni sani; discreta quantità di liquido chiaro nel ventre; nessuna traccia di peritonite. Fegato molto ricco di sangue.

Col sangue del cuore si praticano innesti nei soliti mezzi nutritivi, e dopo 26 ore sulla superficie della cultura in agar, si notano alcune bollicine biancastre, che in seguito confluiscono. Microscopicamente in preparato semplice, la colonia si mostra formata da uno stafilococco. Nei trapianti questo microrganismo, si sviluppa straordinariamente, a guisa di piccoli dischi con margini irregolari, senza produzione di pigmento. La gelatina è solo lentamente fluidificata, e da tutte le culture emana un odore acido. Per tali caratteri culturali, il microrganismo si individualizza come stafilococco piogeno albo.

Esperienza 5.ª — 18 giugno 1896. — Coniglio del peso di grammi 1800. Temp. r. 39°.4.

Ore 10. — Asportazione dei reni.

Ore 21. — Temp. 37°.8. Condizioni buone. Ha mangiato assai.

19 giugno, ore 7. — È abbastanza svelto, toccato scappa con vivacità, ma nell'arrestarsi presenta dei leggieri sussulti muscolari negli arti posteriori

Ore 18. — Si trova disteso a terra, come paralizzato. Se si tocca o punge improvvisamente, tenta reagire, ma il tentativo si esaurisce in lievissimi movimenti ondulatori generalizzati. Temp. 34°.2.

Ore 24. — Temendo che nella nottata possa avvenire la morte, si provoca violentemente (38 ore dopo l'atto operativo).

Tanto la pleura che il polmone appariscono sani. E negativo è pure l'esame del cavo addominale, se si eccettua una discreta congestione epatica. Nulla di notevole nè di contro, nè intorno alle 2 ferite.

Col sangue dei due ventricoli si praticano innesti nei soliti mezzi nutritivi, 30' circa dopo che il cuore è rimasto immerso nella soluzione di sublimato.

Nelle culture in brodo, il primo intorbidamento si osserva presso a poco dopo 3 ore, e già a questo momento si può rilevare, in preparati

semplici, che la cultura è formata da soli bacilli identici, per caratteri morfologici, a quelli ottenuti nella prima, seconda e terza esperienza.

Risultati analoghi a quanto in quelle stesse esperienze osservammo, si ottengono pure con le culture tanto nell'agar, che sulle patate. Alla prova di Gasser il mezzo nutritivo è solo, come in quelle, debolmente decolorato. Il latte coagula presto. La gelatina non è liquefatta. Da tutte le culture emana un odore sgradevolissimo.

Esperienza 6ª. — 22 giugno 1896. — Coniglio del peso di grammi 1500. Temp. r. 39°.8.

Ore 10. — Asportazione dei reni col solito metodo.

Ore 19. — Temp. 38°.3. Mangia ed è molto vispo.

23 giugno, ore 8. — Le condizioni generali si mantengono soddisfacentissime. Ha mangiato dell'erba, e stimolato corre rapidamente per la stanza senza presentare alcun disturbo della motilità. Temp. 37°.8.

Ore 21. — Non ha mangiato. Temp. r. 36°.5. Sta rannicchiato in un canto con respirazione faticosa e frequente.

24 giugno, ore 8. — È molto abbattuto e con respirazione faticosa e frequente. Temp. r. 36°.

Ore 14. — Si trova disteso sul terreno quasi moribondo. Ucciso lo con un colpo sulla nuca si asporta il cuore (52 ore dopo l'atto operativo).

L'esame del cavo toracico è negativo. Nella cavità addominale una piccola quantità di liquido limpido e citrino. Nè sulla superfice della sierosa, nè fra le anse intestinali, che si svolgono tutte accuratamente, si riesce a constatare traccie di essudato fibrinoso. Il fegato è molto ricco di sangue. Nessuna traccia di infiammazione attorno alle 2 ferite.

Col sangue dei due ventricoli, e col liquido contenuto nel cavo peritoneale, si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo 40 ore circa il brodo glicerinato è molto torbido e, in preparato semplice, mostra in cultura pura un bacillo identico morfologicamente a quello ottenuto nelle precedenti esperienze. Dopo alcuni giorni la superficie del mezzo nutritivo si ricopre della solita pellicola.

Il modo di comportarsi di questo bacillo nei trapianti in agar, e nelle culture in patate, non offre del pari alcuna diversità apprezzabile. L'agar fucsinato, conforme al metodo di Gasser, si decolora in capo a 3 giorni solamente in modo parziale. Il latte coagula completamente. La gelatina non è fluidificata, mentre tanto da essa che dagli altri mezzi culturali emana un odore disgustoso.

Le culture del liquido contenuto nel peritoneo sviluppano, allo stato di purezza, un bacillo che ha caratteri assolutamente identici.

Esperienza 7ª. — 17 dicembre 1896. — Coniglio del peso di grammi 2000. Temp. r. 39°.1.

Ore 18. — Asportazione dei reni.

Ore 20. — Temp. 37°.3. Condizioni ottime.

18 dicembre, ore 7. — Temp. 36°.8. Si è nutrito assai. È alquanto abbattuto, però spaventato fugge, sebbene lo faccia con poca vivacità.

Ore 20. — Temp. 36°. — La prostrazione aumenta. Ha respirazione faticosa, ma non periodica.

19 dicembre, ore 7. — Sta rannicchiato in un cantuccio in preda a tremore ricorrente. Eccitato con stimoli dolorosi reagisce in modo lento.

Ore 12. — Temp. 35°.5. — È comatoso, non risponde agli stimoli dolorosi. Prevedendo la fine imminente si uccide (47 ore dopo l'atto operativo).

Premesse le usuali cautele si asporta il cuore, e si pone nella vaschetta contenente soluzione di sublimato al 2 ‰.

Pleure e polmoni sani. Nel cavo peritoneale piccola quantità di liquido citrino. Fegato molto ricco di sangue. Nessun segno di reazione flogistica nel peritoneo, nè attorno alle ferite.

Col sangue di ambedue i ventricoli, e col liquido peritoneale si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo circa 40 ore il brodo è molto torbido, e microscopicamente si rinviene prevalentemente un cocco quasi in ogni punto riunito in piccoli gruppetti, in mezzo ai quali vedesi, ma rarissimo, un bacillo analogo a quello riscontrato negli altri esperimenti. Reperto identico danno le culture in brodo del liquido peritoneale.

Fatti i trapianti in agar disposto a becco di flauto, si sviluppa tanto dalle culture del sangue che del liquido ascitico, uno stafilococco che ha caratteri culturali perfettamente identici a quelli osservati nelle precedenti esperienze.

Nei trapianti in patata si sviluppa puramente il bacillo tanto dal sangue, come dal liquido peritoneale. Questo per caratteri microscopici e proprietà culturali, comportasi perfettamente nello stesso modo che quello delle precedenti osservazioni.

Esperienza 8ª. — 18 dicembre 1896. Coniglio del peso di grammi 1800. Temp. r. 39°.5.

Ore 14. — Asportazione dei reni.

Ore 20. — Temp. 38° 3. Condizioni buonissime.

19 dicembre, ore 8. — Temp. 37°.9. — Si mantiene in condizioni buonissime, corre per la stanza. Si è nutrito.

Ore 20. — Temp. 36°. Profondo abbattimento con leggiere scosse convulsive. Rifiuta il cibo; reagisce pochissimo agli stimoli dolorosi.

20 dicembre, ore 8. — Temp. 36°.6. Trovasi disteso sul suolo. Giudicando la morte vicina, si uccide (42 ore dopo l'atto operativo), asportando subito il cuore.

Nessun fatto degno di nota nel torace; nel cavo addominale appena

un po' di liquido. Fegato congesto. Nessun segno di reazione infiammatoria, nè sul peritoneo, nè di contro o attorno alle ferite.

Col sangue del cuore si fanno innesti nei soliti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimangono completamente sterili.

Esperienza 9ª. — 16 aprile 1897. — Coniglio del peso di grammi 1100. Temp. r. 38°.6.

Ore 16. — Si asportano i reni col solito metodo.

Ore 20. — Temp. 38'. Condizioni ottime.

17 aprile, ore 7. — Temp. 37°.9. — Si è nutrito abbondantemente ed è molto vivace.

Ore 20. — Temp. 37°. È un po'abbattuto, e rifiuta il cibo.

18 aprile, ore 7. — Temp. 36°. È molto abbattuto e dispnoico, cammina a stento, presentando ad accessi, leggieri sussulti muscolari.

Ore 12. — Temp. 35°.7. Trovasi disteso a terra, soporoso. Sollevato ricade. Si uccide (44 ore dopo l'atto operativo), asportando subito il cuore.

Pleure e polmoni sani. Nel càvo addominale piccola quantità di trasudato. Fegato ricco di sangue. Nessun segno di reazione flogistica sul peritoneo, nè di contro alle ferite.

Col sangue del cuore si praticano culture nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo circa 30 ore il brodo è torbido, e in preparato semplice, si trova un bacillo in cultura pura. Esso microscopicamente ha caratteri analoghi a quello precedentemente osservato. Si comporta pure in modo analogo, per proprietà culturali, nei trapianti. Non fluidifica la gelatina, coagula il latte; decolora parzialmente i mezzi fucsinati. Vegeta rigogliosamente sulle patate, e sviluppa un odore penetrantissimo.

Esperienza 10ª. — 17 aprile 1897. — Coniglio del peso di grammi 1600. Temp. r. 39°.2.

Ore 15. — Asportazione dei reni.

Ore 20. — Temp. r. 38°.4. — Condizioni ottime.

18 aprile, ore 7. — Temp. 37°.9. È meno vivace di ieri sera, però si è nutrito molto. Toccato, fugge.

Ore 20. — Temp. 37°. — Abbattimento accentuato con qualche tremore generalizzato.

19 aprile, ore 7. — Si trova disteso sul terreno. Non reagisce agli stimoli; sollevato ricade. Si uccide (40 ore dopo l'atto operativo), asportando immediatamente il cuore.

Nulla nel torace, scarsa quantità di liquido limpido citrino nel ventre. Fegato congesto. Nessun segno di reazione infiammatoria.

Col sangue del cuore si fanno culture nei soliti mezzi nutritivi.

Dopo 40 ore il brodo glicerinato è torbido, e in preparato semplice si vedono microscopicamente bellissime catenule di streptococco in cul-

tura pura. Si fanno numerosi trapianti, e in tutti si riproduce sollecitamente lo streptococco.

Esperienza 11ª. — 30 giugno 1896. — Cane giovane del peso di chilogrammi 5.

Ore 10. — Asportazione dei reni, con metodo identico a quello adoperato per i conigli.

Ore 19. — Condizioni buonissime.

1 luglio, ore 7. — Cammina in cortile come se non fosse stato operato, e mangia assai.

Ore 19. — Stesse condizioni.

2 luglio, ore 7. — È sveltissimo e chiamato accorre festoso, senza presentare alcun disturbo della motilità.

Ore 19. — Identiche condizioni. Si nutrisce discretamente.

3 luglio. — È alquanto abbattuto, e se non si stimola rimane accasciato al suolo, in preda a ben grave prostrazione.

Ore 14. — Condizioni assai aggravate.

Ore 16. — Se non si costringe quasi violentemente a muoversi, se ne rimane sdraiato; non rispondendo affatto alle ripetute chiamate. Rifiuta il cibo. Non presenta moti convulsivi.

Ore 18. — Si trova in condizioni gravissime, con masse muscolari in risoluzione completa, e respirazione dispnoica. Prevedendo una prossima fine si uccide (80 ore dopo l'atto operativo).

Aperta la cavità toracica, e legati i grossi vasi, si asporta il cuore che vien tenuto per 30′ sulla soluzione di sublimato al 2 ‰.

Pleura e polmoni sani. Nessuna traccia di liquido nel peritoneo assolutamente normale, nè di flogosi attorno alle ferite. Fegato molto congesto.

Col sangue del cuore si fanno culture negli stessi mezzi nutritivi adoperati pei conigli.

Al secondo giorno il brodo zuccherato presenta un notevole intorbidamento e, in preparato semplice, si riscontra una forma bacillare, identica per caratteri morfologici a quella riscontrata nei precedenti esperimenti, nei conigli.

Si fanno trapianti in agar disposto a becco di flauto, nei quali si sviluppa, dopo alcuni giorni, sotto forma di uno straterello bianco sottile una colonia pura dello stesso bacillo come quello ottenuto dalle culture del sangue dei conigli; esso non scioglie la gelatina, coagula il latte, e alla prova di Gasser il mezzo colorato sbiadisce. Vegeta rigogliosamente sulle patate.

Esperienza 12ª. — 10 luglio 1896. — Cane del peso di kgr. 4.

Ore 9.30. — Asportazione dei reni con il solito metodo.

Ore 20. — Condizioni buonissime.

11 luglio, ore 8. — In buonissimo stato, mangia con avidità.

Ore 20. — Condizioni uguali.

12 luglio, ore 8. — È assai abbattuto; non ha mangiato; ha respirazione dispnoica e di quando in quando presenta moti convulsivi generalizzati.

Ore 14. — Si trova quasi moribondo, con masse muscolari in risoluzione, respirazione affannosa, ma non periodica. Alle ore 17 si uccide (50 1/2 ore dopo l'atto operativo).

Nessuna alterazione degna di nota nè nel cavo toracico, nè nell'addome, all'infuori di una forte congestione del fegato.

Col sangue del cuore si fanno culture nei soliti mezzi nutritivi.

Solo nelle culture in brodo semplice e zuccherato si sviluppa, in cultura pura uno stafilococco, che nei trapianti vegeta a guisa di dischi biancastri, a margini regolari, che poi confluiscono. La gelatina è lentamente fluidificata, l'odore in tutte le culture è acido.

III. — Esperienze di controllo in animali sani

Esperienza 1ª. — 20 giugno, ore 11. — Coniglio del peso di gr. 1500, sano e ben nutrito.

Si uccide con un colpo sulla nuca, e aperto il torace si allacciano i vasi in vicinanza del cuore, che si asporta in massa e si pone, per 30', in una vaschetta contenente soluzione acquosa di sublimato al 2 °/₀₀.

Aperti quindi in due tempi i ventricoli col termocauterio di Paquelin, col sangue nei medesimi contenuto, si fanno culture sui mezzi nutritivi adoperati nelle precedenti esperienze.

Tutti i tubi rimangono assolutamente sterili.

Esperienza 2ª. — 20 giugno, ore 14. — Coniglio sano e ben nutrito, del peso di grammi 1800. Si uccide collo stesso metodo e, col sangue del cuore si fanno innesti coi soliti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimangono sterili.

Esperienza 3ª. — 22 giugno, ore 11. — Si uccide un terzo coniglio sano, del peso di grammi 1440 e col sangue del cuore si fanno culture nei soliti mezzi.

Dopo 24 ore nella cultura di brodo glicerinato si sviluppano dei cocchi ora isolati e ora riuniti a due. Nei trapianti si sviluppa lo stafilococco piogeno albo.

Esperienza 4ª. — 22 giugno, ore 12. — Coniglio ben nutrito e sano, del peso di grammi 1520.

Si uccide per puntura del bulbo e si praticano col sangue del cuore culture nei soliti mezzi.

Dopo circa 30 ore il brodo glicerinato è torbido, e microscopicamente si trova in cultura pura un bacillo corto e tozzo, analogo per caratteri morfologici e culturali a quello varie volte ottenuto in cultura dal sangue di animali operati di asportazione dei reni, o legatura degli ureteri. Questo bacillo non fluidifica la gelatina, si sviluppa rapidamente sulle patate e, alla prova di Gasser, decolora parzialmente il mezzo nutritivo. Da tutte le culture emana odore penetrantissimo.

Esperienza 5ª. — 24 giugno, ore 11. — Si uccide un quinto coniglio, del peso di grammi 1440, sano e ben nutrito, e si fanno col sangue del cuore i soliti innesti.

Rapidamente il brodo si intorbida, e in preparato semplice si vedono dei cocchi eccezionalmente isolati, quasi sempre riuniti in piccoli gruppi. Essi si riproducono con identità di caratteri in varii mezzi culturali, dai quali emana un odore acido.

Esperienza 6ª. — 24 giugno, ore 12. — Si uccide un sesto animale del peso di grammi 1420, ben nutrito e sano. Col sangue del cuore si fanno innesti nei soliti mezzi, e tutte le culture rimangono sterili.

Riandando complessivamente i risultati di ciascun esperimento, troviamo che in 24 esperienze su 30, cioè nell' 80 °/₀ degli animali, si constatò presenza di microrganismi nel sangue.

Che questa mancò invece in 6 esperienze, cioè nel 20 °/₀.

Che la proporzionale dei casi a reperto positivo o negativo, non offrì grandi differenze, in ragione della diversità degli animali operati, fatta ragione del numero ben diverso per ciascuna delle specie impiegate.

Che 17 volte, cioè nel 56, 66 °/₀ si constatò una sola specie microbica; e nel 23, 33 °/₀ invece una diplomicrobemia.

Che negli animali nei quali vennero fatte culture dai normali [1] trasudati esistenti nelle cavità sierose, si ottennero per ciascun caso, anche da questi, quelle stesse varietà di microrganismi che contemporaneamente si svilupparono nel sangue.

---

[1] Torno a ripetere che questo qualificativo mi sembrava giusto perchè realmente, almeno qui tra noi, quasi di regola nei conigli, si constata anche in animali perfettamente sani una certa quantità di trasudato sieroso non solo nel pericardio, ma anche nel peritoneo.

Che 8 volte, cioè nel 26, 66 °/₀ si trovò una forma bacillare isolata, e identificabile con una varietà del bacterium coli; 7 volte invece questa associata allo stafilococco piogeno albo, cioè nel 23, 33 °/₀; una volta, cioè nel 3, 33 °/₀, lo streptococco; 8 volte cioè nel 26, 66 °/₀, lo stafilococco allo stato di purezza.

Di fronte a questi risultati si presentavano subito diversi quesiti, e prima di tutto quello del punto di origine della constatata microbiemia.

Che questo non potesse essere riconosciuto nella soluzione di continuo praticata a scopo sperimentale, era quasi inutile il discutere. Garantivano troppo sicuramente del contrario, i resultati necroscopici costantemente negativi in tutti gli animali, nonchè argomenti logistici.

Infatti, come ammettere una tale possibilità, senza alcun segno della più lieve lesione locale, senza che esistessero fenomeni di flogosi rilevante da parte della sierosa peritoneale, e sovrattutto senza che si fosse avuta alcuna manifestazione di una reazione generale?

Esclusa questa via di ingresso, non rimaneva che accettarne la provenienza dalla cavità intestinale, ipotesi in favore della quale deponeva, come criterio presuntivo, il sapere che le diverse varietà microbiche trovate nel sangue, possono considerarsi come ospiti abituali, quantunque secondo alcuni più o meno stabili (Fermi) dell'intestino, sia dell'uomo che degli animali, come dimostrarono le ricerche di Escherich, Hoschsinger, Alapy, Cornil e Babes, Gesner, Duprè, Bordas, Inaeck-Henkermaus e Boret, Macfadyen, Nenki e Sieber, Miller, Sucksdorf, Baginsky, Vignal, Bernabei, Fermi, Cassiani, Dallemagne e altri, e la constatazione di un reperto analogo ottenuto in animali di controllo nella metà dei casi.

Ma di contro ad esso sorgeva però una questione di massima, e cioè se possa ammettersi la penetrazione di microrganismi attraverso la mucosa intestinale in condizioni normali.

Le comunicazioni di Ribbert, di Bizzozzero e di Kuisl, sulla constatazione di microbi negli elementi linfatici della mucosa, sembravano sulle prime risolverla in senso affermativo. Ma il dubbio tornò a farsi strada, dopochè Manfredi ebbe fornita la

prova, che i microrganismi descritti dagli autori predetti, erano morti, e non potevano quindi considerarsi che quali corpi inerti, inglobati dagli elementi linfatici stessi, come avviene ordinariamente di granuli indifferenti.

Questi dati non valsero bensì a far passar la cosa in giudicato, anzi si può dire, che da questo momento lo studio dell'argomento fu ripreso con maggior lena; e mentre da un lato si moltiplicarono le ricerche tendenti ad esagerare, come avverte Ferranini, la importanza esercitata dalle superficie mucose del nostro corpo contro l'invasione dei microbi (Charrin, ecc.), dall'altro lato si accumularono prove per la pelle (Garrè, cit. da Ferranini, Wasmuth), a parer nostro sufficienti per garantire la possibilità del fatto, come si era riesciti a provarlo e finanche (Franckel) per barriere ritenute insuperabili, come la membrana dei cisticerchi (Chauffard e Vedal).

Riandando queste ricerche, troviamo fra gli oppositori Neisser che, fatta eccezione per qualche varietà speciale, es. il bacillo di Kaensche, ritiene che per gli altri microrganismi sia quasi impossibile la penetrazione attraverso alla parete normale. La stessa conclusione è formulata dal Galeazzi, come corollario delle sue ricerche sulla setticoemia e batteriuria nelle occlusioni intestinali. Achard e Pulpin ammisero alla lor volta la evenienza facilissima dopo la morte, ma quasi impossibile in vita.

Vurtz e più recentemente Simoncini, sostennero sostanzialmente la medesima opinione, ma in maniera meno recisa, ammettendo il fatto possibile sotto la dipendenza di cause coadiuvanti, quantunque non direttamente attive, sulla mucosa dell'intestino, come il raffreddamento del corpo, l'azione di certe sostanze chimiche, quali il cloralio, ecc.

I risultati in favore sono molto più numerosi, ed anche ammettendo che i reperti di Landouzy di Richet, di Billet, di Patella a proposito della microbiemia tubercolare, possono essere riferiti ad altra via d'ingresso, almeno in certi casi, quelli sperimentalmente ottenuti da Dobroklouski basterebbero per accertare, che almeno il bacillo di Koch può penetrare nel sangue per questa via quantunque in istato di perfetta integrità.

Tuttavia questo, come fatto particolare non proverebbe gran che se fosse isolato, in considerazione non solo dell'alta patogeneità del microrganismo in parola, quanto per l'influenza ben nota di speciali condizioni di recezione individuale, non solo nell'uomo, ma anche negli animali. Ma la cosa è ben diversa, e mentre gli studi di BANTI confermano dal lato speciale per il bacillo di EBERTH, e quelli di ZIEGLER e di MARAGLIANO e altri per il bacterium coli, i rilievi di NOCARD, CHAUVEAU, DASKE, GALIPPE, FERRANINI, le ricerche di POSNER e LEVIN, e quelle recentissime fatte eseguire dal QUEIROLO, portano il contributo più desiderabile dal punto di vista generale, specialmente ove si rifletta che alcuni fra questi osservatori, come NOCARD, DASKE, poterono acquistare la certezza di una normale microbiemia quasi inopinatamente, e in animali che si trovavano in perfetta salute, e in cui nessun atto operativo era stato praticato.

La possibilità dell'evenienza in parola non può esser dubbia, e molto meno si può sospettarlo per i miei esperimenti, perchè in questi l'assoluta integrità della mucosa intestinale, quantunque sembrasse affermata dall'esame macroscopico, era tutt'altro che sostenibile in senso assoluto, trattandosi di animali nei quali si provocava la morte per soppressa funzione del emuntorio renale. È infatti ben noto che questi stati morbosi inducono, come le malattie renali al periodo di notevole insufficienza dell'organo, condizioni di secondaria alterazione tossica nella mucosa intestinale, i cui vasi ed epiteli sono forzati ad una funzione vicaria, e all'eliminazione in quantità cospicua di prodotti capaci di trasformarsi, come l'urea, in sostanze (carbonato di ammoniaca, FISCHER), possibili di azione profondamente lesiva la nutrizione, e rispettivamente la vitalità degli elementi istologici, effetto al quale devono cooperare (BIEMACKI), le aumentate fermentazioni locali.

È anzi molto probabile che, rispetto al caso in termini, dovesse ricercarsi in queste condizioni locali, prese nel loro insieme, quella circostanza che Ferranini qualifica come il *primum movens* delle microbiemie patologiche primarie, che però non essendo fatto costante, dovea trovare la sua ragion di essere,

e sovrattutto la sua evoluzione progressiva, nella coefficienza di altri fattori, da ricercare nei tessuti o nel sangue, e presumibilmente almeno in prevalenza in questo ultimo.

Le ricerche di FELTZ e RITTER, di CUFFER e altri, e soprattutto quelle praticate nel corrente anno in questo stesso laboratorio dal dottor BUSSI, provano difatti che il sangue subisce delle alterazioni notevolissime nella uremia, tanto spontanea che provocata sperimentalmente; e che queste alterazioni affettano non solo gli elementi corpuscolari, la densità e la reazione del sangue stesso, ma anche sovrattutto i suoi poteri respiratori, tanto da derivarne la conseguenza di una specie di paresi nei poteri funzionali delle emazie. Ciò avanzerebbe per suggerire l'idea di una corrispondente diminuzione del suo potere bactericida, se questa non fosse stata già dimostrata dalle ricerche di LONDON.

LONDON infatti affermò averla constatata fino quasi all'abolizione assoluta.

Siccome però tali ricerche, che io mi sappia, sono isolate, ho voluto ripeterle, non tanto con lo scopo di controllare ciò che non avrebbe avuto ragion d'essere di fronte a un osservatore così rigoroso, quanto per mettere in chiaro se si potesse, senz'altro, per criteri di proporzionalità inferirne, che questo sia realmente il principale fattore incriminabile nel fatto osservato.

Il reperto delle indagini che vado a riferire mi sembra lo dimostrino fino all'evidenza.

Per la determinazione del potere bactericida del sangue, mi sono attenuto al metodo il più abitualmente eseguito dagli osservatori che mi precedettero (BUCHNER, DE RENZI, FODOR, ROVIGHI, PRUDEN, ENDERLEBEN, BAKUNIN e BOCCARDI, IEMMA, CENI, GALLI, BIANCHI-MARIOTTI, LONDON, D' ABUNDO, ecc.) in ricerche del genere. Come animali ho adoperato i conigli.

Delle piccole boccie di vetro a forma conica, contenenti molti pezzetti di cristallo, venivano tappate con cotone, e sterilizzate ripetutamente nella stufa a 150° C°. Nello stesso tempo si praticavano trapianti in brodo da culture prese dello stafilo-

cocco, e del bacillo ottenuto di recente dal sangue di conigli, presso a morire per legatura degli ureteri, e asportazione dei reni.

Fissato l'animale nell'apparecchio di Zermack in posizione dorsale, rasato il pelo e disinfettata accuratamente la pelle, si mette allo scoperto la carotide, isolandola per un tratto di 3 cent. circa, che viene compresa fra due lacci. Con una piccola incisione a V, si introduce nel vaso, e vi si fissa con robusta legatura, un tubo di vetro ricurvo.

Inclinando l'apparecchio di fianco, e allentato il laccio centrale, si lascia sgorgare una certa quantità di sangue in una delle boccie su accennate, che nuovamente chiusa, si agita con moderata forza per un certo tempo, onde ottenere la precipitazione della fibrina.

Dopo avere lasciato in riposo per alcuní minuti per ottenere una certa precipitazione della parte corpuscolare, con pipetta sterilizzata a secco, si aspirano a riprese 2 cmc. del liquido, che viene versato in provette pure convenientemente sterilizzate. Successivamente con un'ansa di platino di 3 mm. si fa un innesto in tubi di gelatina liquefatta, con cultura dello stafilococco e del bacillo come già precedentemente avvertimmo, coltivati da 24 a 36 ore. Agitati i tubi se ne versa il contenuto separatamente in una capsula di Petri (A. per lo stafilococco, B. per il bacterio), che vengono subito messe nel termostato a 20°. C.

Contemporaneamente un'ansa delle due culture madri, veniva portata nelle provette contenenti il sangue. Queste erano mantenute nel termostato a 37°, e con intervalli di mezz'ora, tre, sei ore, se ne toglieva un'ansa di sangue per trasportarlo in altra provetta di gelatina liquefatta, con cui si facevano piastre, che venivano mantenute nel termostato a 20°; distinguendo colle lettere A,′ A,″ A‴ quelle seminate col sangue inquinato dallo stafilococco, e colle lettere B,′ B″, B‴, quelle in cui era stato immesso il bacterio, e avendo cura di ottenere un livellamento completo del mezzo nutritivo.

Dopo 48 ore si procedeva alla contatura delle colonie, che veniva praticata a piccolo ingrandimento (Oc. 2. Ob. 3 Ko-

ristka), e con soccorso di un diaframma quadrettato mantenuto sul piano della capsula, e di cui ogni spazio corrispondeva a 4 mm.² Stabilito il numero delle colonie corrispondenti a diversi quadratini, dedottane la media, riportando questa all'unità di superficie (mm.²) e moltiplicando tale cifra per 6358,5 numero esprimente in mm² quello dell'intiera capsula, si otteneva con facilità il numero esatto delle colonie sviluppatesi, eccetto in quei casi in cui lo sviluppo stesso fu così rigoglioso da rendere, malgrado ogni artifizio, impossibile una numerazione esatta.

IV. — Determinazione del potere bactericida del sangue in animali ad ureteri legati.

Esperienza 1ª. — 28 marzo 1897. — Coniglio del peso di grammi 1800. Ore 16. — Legatura degli ureteri.

30 marzo. — Essendo l'animale, sino dal mattino, in condizioni assai gravi, alle ore 11 si immobilizza, si raccoglie il sangue dalla carotide, e si praticano le ricerche bacteriologiche col metodo predetto. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Sviluppo di colonie innumerevoli. — A'. 13225.680. — A''. 7948.12. — A'''. 2956.85.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 283649.94. — B''. 105157.44. — B'''. 542443.63.

Esperienza 2ª. — 28 marzo 1897. — Coniglio del peso di grammi 1750. Ore 17. — Legatura degli ureteri.

1° aprile. — L'animale è molto abbattuto, ha respirazione dispnoica, e di quando in quando è assalito da spasmi generalizzati.

Giudicandolo in pericolo di vita, alle ore 14 si estrae il sangue col solito metodo. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. — Colonie innumerevoli. — A'. 20061.06. — A''. 43710.83. — A'''. 17485.83.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 140682.81. — B''. 226402.57. — B'''. 656101.32.

Esperienza 3ª. — 29 marzo 1897. — Coniglio del peso di grammi 1700. Ore 15. — Legatura degli ureteri.

31 marzo, ore 8 — L'animale è in condizioni molto gravi, non si tarda perciò a raccogliere il sangue, ecc. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 11699,64. — A''. 45304.31. — A'''. 12728 50.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 292319.78. — B''. 184396.5. — B'''. 209626.31.

Esperienza 4ª. — 29 marzo 1897. — Coniglio del peso di grammi 1570. Ore 16. — Legatura degli ureteri.

31 marzo, ore 10. — Essendo l'animale in imminente pericolo di vita, si leva il sangue dalla carotide, e si praticano le solite ricerche. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 67749.81. — A''. 69138.31. — A'''. 81269 21.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 152854.17. — B''. 80657.57. — B'''. 328197.56.

Esperienza 5ª. — 1° aprile 1897. — Coniglio del peso di grammi 1500. Ore 10. — Legatura degli ureteri.

3 aprile. — L'animale verso le ore 11 ant. si fa improvvisamente dispnoico e comatoso. Si leva il sangue alle 11.30'. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 328197.82. — A''. 6358.5. — A'''. 4954.63.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. Colonie innumerevoli. — B''. 222047.75. — B'''. Colonie innumerevoli.

Esperienza 6ª. — 1° aprile 1897. — Coniglio del peso di grammi 1800. Ore 11. — Legatura degli ureteri.

3 aprile, ore 15. — L'animale è in preda a tremore generale, cui si associano di quando in quando dei moti convulsivi diffusi. Si estrae il sangue dalla carotide per la prova solita. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 3913,56. — A''. Colonie innumerevoli. — A'''. Colonie innumerevoli.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 56095.55. — B''. 50645.45. — B'''. 308387.25.

V. — Determinazione del potere bactericida del sangue in animali operati di asportazione dei reni.

Esperienza 1ª. — 3 aprile 1897. — Coniglio del peso di grammi 1600. Ore 15. — Asportazione dei reni.

5 aprile, ore 16. — Mostrandosi l'animale aggravato, si raccoglie il sangue dalla carotide e si procede colle solite ricerche. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 8329.63. — A''. 8520.39. — A'''. 1780.38.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 135499.38. — B''. 577738.63. — B'''. Colonie innumerevoli.

Esperienza 2ª. — 11 aprile 1897. – Coniglio del peso di grammi 1800.

Ore 15. — Asportazione dei reni.

15 aprile, ore 11,30. — Grave abbattimento interrotto da convulsioni. Respirazione dispnoica, ma non periodica. Si raccoglie il sangue alle ore 12,20. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A' 5164.10. — A''. 1884.20· — A'''. Non si contano che 4 colonie in tutta la piastra.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 502622.27. — B''. 2575 19. — B'''. Colonie innumerevoli.

Esperienza 3ª. — 11 aprile 1897. — Coniglio del peso di grammi 1700.

Ore 16. — Asportazione dei reni.

13 aprile, ore 8 — Essendo l'animale in condizioni molti gravi, si raccoglie il sangue, ecc. Risultati:

I° — Con lo stafilocoo. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 5163.10. — A''. 1883.85. — A'''. Si contano solo 5 colonie in tutta la piastra.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 103325.62. — B''. 90990.13. — B'''. Colonie innumerevoli.

Esperienza 4ª. — 12 aprile 1877. — Coniglio del peso di grammi 1400.

Ore 16. — Asportazione dei reni.

14 aprile, ore 10. — Stato comatoso molto grave. Di quando in quando scosse muscolari assai intense. Si raccoglie il sangue alle ore 11.20', ecc. Risultati:

I° — Con lo stafilocco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 7308.14. — A''. 4768.87. — A'''. 4643.37.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 556368.75. — B'' 436590.35. — B'''. Colonie innumerevoli.

VI. — Determinazione del potere bactericida del sangue in conigli sani.

Esperienza 1ª. — 15 aprile 1897. — Coniglio adulto e sano, del peso di grammi 1500.

Ore 9. — Si immobilizza nell'apparecchio, e col sangue estratto dalla carotide si ripetono i saggi precedenti. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli — A'. Nessuna colonia. — A''. 1680 34. — A'''. Nessuna colonia

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 9 colonie in tutta la piastra. — B''. 6 colonie in tutto — B'''. 1680.34.

Esperienza 2ª. — 15 aprile 1897. — Coniglio adulto e sano, del peso di grammi 1480.

Ore 15. — Estrazione del sangue, ecc. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. Si conta una colonia in tutta la piastra. — A''. Nessuna colonia. — A'''. Nessuna colonia.

II° — Col bacillo. — B Colonie innumerevoli. — B'. 8 colonie in tutta la piastra. — B''. 13 colonie in tutta la piastra. — B'''. 1569.62.

Esperienza 3ª. — 19 aprile 1897. — Coniglio adulto e sano del peso di grammi 1600.

Ore 9. — Estrazione del sangue dalla carotide, ecc. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A. Colonie innumerevoli. — A'. 1112.5 — A''. 317.5. — A'''. 853.5.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. - B'. 2384. — B''. 7153. — B''' 2150.

Esperienza 4ª. — Coniglio adulto e sano del peso di grammi 1720.

Ore 15. — Estrazione del sangue, ecc. Risultati:

I° — Con lo stafilococco. — A Colonie innumerevoli. — A'. 1049.82. — A''. Nessuna colonia. — A'''. 3 colonie in tutta la piastra.

II° — Col bacillo. — B. Colonie innumerevoli. — B'. 1423. — B''. 14 colonie in tutta la piastra. — B'''. 8 colonie in tutta la piastra.

Non occorre rilevi che questi esperimenti confermano pienamente l'alta diminuzione del potere bactericida constatato dal London.

Quantunque i fenomeni presentati dagli animali che furono oggetto della Iª e IIª serie delle mie ricerche, non differiscano affatto da quelli già registrati e descritti da altri osservatori, che provocarono sperimentalmente l'urinemia, sia con l'asportazione dei reni, che con la legatura degli ureteri (Vanni e Manzini, Benvenuti-Messerotti, ecc.), e il difetto di una costanza assoluta nel reperto della microbiemia, autorizzavano ad escludere la possibilità che a questa potesse attribuirsi una coefficienza nello sviluppo dei fenomeni stessi, nondimeno, per eliminare qualunque dubbio, credetti non del tutto fuor di luogo accertarmene con ricerche dirette.

A queste mi sentii anzi spinto anche da un' altra considerazione, che mi parve destinata a prevenire la possibilità di una obiezione, tutt' altro che irrazionale.

Essendo i casi a reperto positivo, senza confronto superiori (80 %) a quelli di reperto negativo (20 %), si sarebbe potuto sospettare la causa di questo in uno di quegli insuccessi, a cui malgrado ogni buona volontà e correttezza di metodo, può andare incontro qualunque osservatore che si prefigga di indagare, secondo un obiettivo prestabilito, la presenza o meno di microrganismi nel sangue.

Le ragioni del fatto sono troppo facili a intravedere, e del resto troppo note, perchè occorra enumerarle, e se valgono per l'uomo, molto più possono avere importanza per esperimenti sugli animali, in cui le condizioni più variate, di provenienza, di alimentazione, ecc., devono logicamente esagerarle.

Data tale supposizione, per dimostrarne l' attendibilità o l' insussistenza, non rimaneva che una sola via, e cioè studiare se le sostanze tossiche elaborate dai microrganismi prevalentemente trovati nel sangue degli animali in esperimento, fossero o no capaci, se iniettate in quantità variabili ad altri animali, in cui si stava svolgendo una urinemia provocata collo stesso metodo, di indurre una modificazione qualsiasi nei caratteri o nell' intensità dei fenomeni, registrati come ordinaria manifestazione dell' avvelenamento.

Con questo scopo eseguii le esperienze che vado a riferire.

Risultando dai reperti precedenti, che i microrganismi più frequentemente riscontrati, erano un bacillo del gruppo coli, e un cocco che per i suoi caratteri culturali poteva identificarsi allo stafilococco piogeno albo, coltivai separatamente ciascuno di essi in cm^3 900 di brodo preparato convenientemente, e filtrato in grossi palloni, che venivano sterilizzati nella stufa a vapor d' acqua.

In ciascun pallone trasportai varie anse di cultura pura dei rispettivi germi in brodo glicerinato, che aveva ottenuto di recente dal sangue di animali che stavano per morire di urinemia provocata con uno dei metodi anzidetti.

I palloni vennero posti nella stufa a 37° per 6 giorni, tempo

più che sufficiente perchè si avesse un notevole intorbidamento del liquido, per rigoglioso sviluppo del microrganismo culturato.

Il liquido, lasciato raffreddare, era filtrato per la candela porosa, e successivamente vi si univa, a diverse riprese, dell'alcool, agitando energicamente ogni volta, e arrestandosi al momento in cui, con nuova aggiunta del medesimo, non si otteneva più alcun precipitato. Si lasciava in riposo per 24 ore in luogo molto fresco, e poi si filtrava con filtri di carta svedese precedentemente sterilizzata a secco, avendo cura di operare con ogni possibile cautela antisettica per ciò che riguardava i recipienti, le manovre, ecc.

Il filtro era dopo essicato entro una capsula di Petri nella stufa a moderato calore. Quando l'essicamento era completo, del che ci si accertava per la mancanza di differenza in due successive pesate, con una sottile spatola di metallo si asportava il materiale rimasto sul medesimo, e che rappresentava la sostanza precipitata dall' alcool.

Queste mostravano le apparenze di una polvere bianco-grigiastra, incompletamente solubile nell'acqua, la cui reazione non cambiava per l'aggiunta delle medesime. La loro quantità era pur troppo assai scarsa, non corrispondendo che a 12 ctgr. per il brodo di cultura dello stafilococco, e a 15 ctgr. per quello del bacterio.

I primi vennero sciolti in 15 grammi d'acqua distillata, e precedentemente sterilizzata coll' ebollizione.

I secondi in grammi 20 dello stesso liquido.

VII. — Ricerche sull'azione delle tossine dello stafilococco e del bacterio, ottenuto dal sangue di conigli urinemici.

A.

Esperienza 1ª. — 29 maggio 1897, ore 16. — Coniglio del peso di grammi 1970. Temp. r. 38.°3. Allacciatura degli ureteri

30 maggio. — Condizioni generali buone.

31 mattino. — Temp. 36°.8. L'animale è un po' abbattuto. Alle ore 10, e cioè 42 ore dopo l'atto operativo, per mezzo di una piccola provetta

imbutiforme, raccordata a un tubo di gomma, portante al suo estremo opposto una canula capillare di vetro turata alla lampada, si iniettano nella vena auricolare destra 10cm³ della soluzione di tossina ottenuta dalla cultura dello stafilococco. Poco dopo si apprezza un notevole aumento di intensità nello stato di abbattimento generale che va crescendo fino al momento della morte, avvenuta nel termine di 5 ore per colasso.

Durata della vita ore 47.30'. Differenza — ore 27.20' dalla media abituale. (¹)

Il reperto necroscopico non differisce da quello abitualmente trovato in animali morti per sola legatura degli ureteri.

Esperienza 2ª. — 29 maggio 1897, ore 17. — Coniglio del peso di grammi 1500. Temp. r. 39°.1. Legatura degli ureteri.

30. — Nessun fenomeno morboso.

31. — È un po' meno vivace, ma non presenta nè tremori, nè scosse convulsive. Alle ore 11, cioè dopo 42 ore dall'atto operativo, si iniettano i rimanenti 5 grammi della soluzione precedente.

Nessun fenomeno immediato. Temp. r. 37°.2. Verso le ore 20 si pronuncia un grave abbattimento, seguito quasi subito da paralisi del treno posteriore. Temp. r. 36°.4.

Morte alle ore 23, dopo un breve periodo di scosse convulsive.

Durata della vita dall'atto operativo ore 53. Differenza dalla media abituale — ore 22.

Alla necroscopia nessun fatto nuovo degno di menzione.

B.

Esperienza Iª. — 10 giugno 1897. — Ore 15. — Coniglio del peso di gr. 1600. Temp. r. 39°.6. Legatura degli ureteri.

11. — Sulla sera mostrasi un po' assopito ed ha respirazione faticosa e frequente. Temp. 38°.1.

12, ore 8 — Prostrazione generale assai accentuata. Temp. r. 37°.8. Stimolato reagisce molto lentamente. Ha respirazione affannosa ma non periodica.

Alle ore 11, iniezione nella vena dell'orecchio destro di 10 cm³ della soluzione di tossina, ottenuta dalla cultura del bacterio.

La prostrazione generale si accentua quasi subito, e aumenta progressivamente d'intensità fino al momento della morte, avvenuta in preda a coma alle ore 13.

(¹) Ho dedotto questa cifra dal lavoro del prof. Vanni e Manzini, e da ricerche successive, e che verranno pubblicate fra breve, eseguite in questo stesso laboratorio dal dott. Gazzotti.

Durata della vita dalla legatura degli ureteri, ore 47. Differenza dalla media abituale — ore 28. Reperto necroscopico simile a quello notato in conigli morti per semplice asportazione dei reni.

Esperienza 2ª. — 10 giugno 1897. — Ore 16. — Coniglio del peso di gr. 1620. Temp. r. 39°.4. Legatura degli ureteri.

Nessun fenomeno morboso si osserva al giorno dopo, se si eccettua forse nelle ore tarde della sera, un po' meno di vivacità. Temp. r. 38°.9.

12. — Mattino. Notevole abbattimento, e respirazione dispnoica.

Alle ore 10.30′ si iniettano nella vena auricolare destra i 10 cm³ residuati della soluzione predetta.

La depressione generale non aumenta subito, ma dopo quasi un'ora si fa rapidamente imponente.

Temp. r. 35°.8. Morte senza fenomeni convulsivi alle 13.40′.

Durata della vita ore 45.40′. Differenza dalla media abituale di ore 29.20′.

L' unico effetto constatato consisteva in un abbreviamento della vita. Ma siccome questo era affatto generico, e concepibilissimo in confronto coi comuni poteri tossici di tali prodotti, i risultati potevano considerarsi come negativi.

Ma non sarebbe stato però corretto il generalizzarli, perchè si poteva ritenere che nel caso in termini, le sostanze tossiche attive appartenessero al gruppo di quelle non precipitabili dall' alcool, o magari che fossero da questo tenute in soluzione.

Sembrandomi questa supposizione ragionevolissima, volli ripetere le prove coll' adoperare il liquido di cultura in toto, e mi contenni nella seguente maniera.

Il liquido precedentemente trattato coll'alcool era distillato nel vuoto fino a spossamento, e successivamente evaporato a bagno maria, finchè non si avesse più traccia di alcool chimicamente rilevabile.

A tal punto, quello che avea servito alla cultura del bacterio era cm.³ 250, con colorito giallo ambra, di odore lievemente aromatico, di reazione alcalina.

Quello che avea servito alla cultura del cocco era 320 cm.³, di colorito pure giallo ambra, di odore penetrante, di reazione neutra.

Con l' uno e con l' altro separatamente praticai gli esperimenti qui appresso:

VIII. — Ricerche sull'azione del liquido di cultura dello stafilococco albo ottenuto dal sangue di conigli urinemici.

A.

Per avere un dato sicuro sulla quantità che avrei potuto iniettare, senza produrre effetti gravi diretti, mi detti cura di saggiare il grado di tossicità immediata con saggi preliminari, iniettandolo nella vena auricolare di varii conigli, sotto pressione moderata, e alla temperatura del corpo, sino a provocare la morte.

Potei così acquistare la certezza che esso produceva l'effetto in parola, alla dose media (dedotta da 4 esperienze), di cmc^3 48 per chilogrammo di animale. (1)

Partendo da questa cifra eseguii le seguenti esperienze:

Esperienza I^a. — 16 giugno 1897. — Ore 15. — Coniglio del peso di gr. 1650. Temp. r. 39°.6. Legatura degli ureteri.

17. — Condizioni ottime. Temp. r. al mattino 38°.6. Alla sera 38°.4.

18. — È un po' abbattuto, e questo abbattimento si accentua verso le ore 10, ora in cui comincia ad avvertirsi anche un po' di dispnea, e qualche scossa muscolare. Alle ore 11 si iniettano nella vena auricolare destra cm^3 26.43 del liquido predetto, cioè avuto riguardo al peso dell'animale, la terza parte della quantità necessaria per produrre la morte immediata.

Durante l'iniezione, non si osservano che un notevole aumento delle respirazioni, che si fanno anche irregolari, e qualche scossa convulsiva verso la fine.

Messo in libertà l'animale, si nota un aggravamento rilevante della prostrazione generale.

Quasi dopo pochi minuti, esso si sdraia sul terreno abbandonandovi la testa, e respirando affannosamente. Temp. r. 35°.6. Alla prostrazione fa

(1) Noto come fenomeni osservati durante l'iniezione un sollecito aumento della respirazione che diveniva in seguito, spesse volte irregolare, e poco prima della morte, leggere scosse generalizzate, accompagnantesi a moderato restringimento della pupilla. Alla necroscopia di qualche animale, rarissime emorragie sottopleuriche. Sangue liquido. Nessun altro fatto degno di nota, e che potesse rilevarsi così ad occhio nudo.

seguito un vero coma in preda al quale si ha la morte alle 12.20'. Durata della vita dalla legatura degli ureteri ore 45.20'. Differenza della media abituale ore 29°.40'.

Alla necroscopia, all'infuori delle abituali lesioni degli ureteri e dei reni, ecc., non si riscontra alcun'altra alterazione apprezzabile. Il sangue è liquido nelle cavità cardiache e nei vasi.

Esperienza 2ª. — 16 giugno 1897, ore 10. — Coniglio del peso di grammi 1600. Temp. r. 37°.3. Legatura degli ureteri.

17. — Condizioni soddisfacentissime. Temp. r. al mattino 38°.9; alla sera 38°.6.

18 mattino. — Temp. 37°.8. Ha leggiera dispnea, ma conserva ancora molta vivacità.

Alle ore 11, e cioè 48 ore dopo l'operazione, si iniettano nella vena auricolare destra cm³ 25.6 del solito liquido, cioè $^1/_3$ della quantità necessaria per produrre la morte.

Non si osserva alcuna conseguenza immediata. Temp. r. 37°.1. Alle ore 13 si pronuncia quasi in maniera improvvisa, come del resto avviene spesso in questi casi, una prostrazione comatosa. (Temp. r. 35°.2), in preda alla quale l'animale muore alle 15.40', senza aver presentato fenomeni convulsivi.

Durata della vita dalla legatura degli ureteri ore 53.40'.

Differenza dalla media abituale ore 21.20'.

Alla necroscopia il solito reperto.

Esperienza 3ª. — 17 giugno 1897, ore 8. — Coniglio del peso di gr. 1630. Temp. r 37°.3. Legatura degli ureteri.

Passa il 18 in condizioni soddisfacentissime.

19. Mattino. — È un po' meno vivace, ma stimolato corre per la stanza senza presentare nè tremori, nè scosse convulsive. Da qualche momento sembra che la respirazione sia un po' affannosa. Verso il mezzogiorno si trova dispnoico e assai prostrato. Immediatamente si iniettano nella vena auricolare destra cm³ 19.56 del solito liquido, corrispondente a $^1/_4$ della quantità necessaria per produrre la morte rispetto al peso del corpo.

Temp. r. 36°.1. — Notevole aumento della prostrazione, stato comatoso verso le 3 pom. e morte senza fenomeni convulsivi alle ore 5.12.

Il reperto necroscopico non offre alcun fatto degno di nota.

Durata della vita ore 57.12'. Differenza dalla media abituale —ore 17.48'.

Esperienza 4ª. — 17 giugno 1897, ore 9. — Coniglio del peso di gr. 1785. Temp. r. 39°.4. Legatura degli ureteri.

18, ore 8. — Sembra stia benissimo. Temp. r 39°.2. Si iniettano nella vena auricolare destra cm³ 21.42 del solito liquido, pari a $^1/_4$ della quantità

totale necessaria per produrre la morte immediata. Non sembra essersene avvertito, e si mantiene vivace per tutto il giorno.

19 mattino. È molto abbattuto e dispnoico, ma non presenta nè tremori, nè scosse convulsive. Verso le 12 cade in preda a coma e muore alle 2.20.

Reperto necroscopico identico a quello dei casi precedenti.

Durata della vita dalla legatura degli ureteri ore 53.30′. Differenza dalla durata media abituale, ore 21.30′.

B. — Ricerche col liquido di cultura del bacillo.

Il liquido residuato dalla distillazione, e dall'evaporazione dell'alcool era cm³ 250.

La sua tossicità immediata, dedotta da una media di 4 prove, in conigli adulti e sani, si trovò corrispondente a cm³ 22 per chilogrammo di animale.

Esperienza 1ª. — 18 giugno 1897, ore 14. — Coniglio del peso di grammi 1250. Temp. r. 39°.7 Legatura degli ureteri. Stato generale apparentemente ottimo il 19.

20, ore 8. — È alquanto abbattuto, e dispnoico. Temp. 37°.7, iniezione nella vena auricolare destra di cm.³ 9.16 del liquido predetto, corrispondente a $^1/_3$ della quantità necessaria per produrre la morte, in rapporto al peso dell'animale.

Nel primo momento non sembra essersene risentito, ma dopo 1 ora circa, si fa profondamente sonnolento e abbattuto. Temp. r. 36°.7 e senza aver presentato alcun fenomeno convulsivo, cade in preda a coma alle ore 9 circa e muore tosto.

Durata della vita dalla legatura degli ureteri, ore 43 circa.

Differenza dalla media abituale, ore 32 circa.

Alla necroscopia reperto analogo a quello delle altre osservazioni.

Esperienza 2ª. — 18 giugno 1897, ore 15. — Coniglio del peso di grammi 1380. Temp. r. 39°.6. Legatura degli ureteri.

Passa in ottimo stato il 19 e le prime ore del 20, non cominciando a mostrare un lieve abbattimento che verso le 11 ant. Temp. r. 37°.1. Alle ore 11.15 si iniettano nella vena auricolare destra cm³ 10.18 del medesimo liquido, pari a $^1/_3$ della quantità necessaria per produrre la morte.

Quasi subito la prostrazione generale si accentua, e aumenta d'intensità fino alla morte avvenuta alle ore 8.

Durata della vita dalla legatura degli ureteri ore 42.45′.

Differenza dalla media abituale, ore 32.15.

La necroscopia offre il solito reperto.

Esperienza 3ª. — 13 giugno 1897, ore 8. — Coniglio del peso di gr. 1506. Temp. r. 37°.8. Legatura degli ureteri.

19. Stato soddisfacentissimo al mattimo, e che continua anche verso il meriggio. Temp. r. 38°.9.

Alle 2 pom. iniezione nella vena auricolare destra di cm³. 11.43 del medesimo liquido, corrispondente a $^1/_3$ della quantità necessaria per produrre la morte immediata.

Nessuno effetto apparente.

20, ore 8. — È molto abbattuto e dispnoico, ma non presenta nè tremori, nè scosse convulsive. Temp. r. 36°.2. Verso le 14 la prostrazione cresce molto, e l'animale muore alle 16.50.

Durata della vita dalla legatura degli ureteri, ore 56.50'.

Differenza dalla media abituale, ore 18.10.

Nessun fatto degno di particolare menzione alla necroscopia.

Esperienza 4ª. — 18 giugno 1897, ore 9. — Coniglio del peso di grammi 1429. Temp. r. 39°.3. Legatura degli ureteri.

19, ore 8. — Condizioni eccellenti. Alle 10 iniezione nella vena auricolare destra di cm.³ 20.94 del medesimo liquido, pari a $^2/_3$ della quantità necessaria per produrre la morte immediata. Ne segue un certo abbattimento che però scompare dopo 1 ora circa, per tornare a presentarsi nella sera anche più grave. Temp. r. 36°.8.

20, mattina. — Si trova moribondo, e muore alle 9.30'.

Durata della vita dalla legatura degli ureteri, ore 48.30.

Differenza dalla media abituale, ore 26.30.

Alla necroscopia il reperto usuale.

Questi risultati non fanno che confermare le precedenti conclusioni, dimostrando che l'unico effetto che tiene dietro all'immissione nel circolo di liquidi di cultura, della varietà di stafilococco e di bacterio, riscontrate nel sangue di animali urinemici, consiste in un abbreviamento della vita, fatto intelligibilissimo quale conseguenza delle sostanze tossiche iniettate, le quali però non sono capaci di alcuna modificazione dei caratteri e delle modalità di evoluzione della sindrome urinemica, perchè queste non avrebbero potuto non verificarsi, se almeno in parte ne dipendessero.

Riassumendo i diversi reperti dei miei esperimenti, io mi credo in diritto di concludere:

1° Che negli animali resi artificialmente urinemici, è frequente lo sviluppo di una microbiemia di origine intestinale.

2° Che questa trova la ragione del suo sviluppo in alterazioni degli elementi istologici dell'intestino, provocate dall'azione di sostanze tossiche che è costretto ad eliminare vicariamente.

3° Che i microrganismi rinvenuti nel sangue nelle condizioni predette, non esercitano alcuna influenza nè sullo sviluppo, nè sul grado, nè sui caratteri dei fenomeni urinemici.

Possono queste conclusioni di indole puramente sperimentale, essere trasportate senz' altro nel campo della patologia umana? Ecco la domanda che io mi sono fatta già da quando ho potuto convincermi, che la constatazione della microbiemia negli animali, era reperto molto frequente, e alla quale ho procurato di contrapporre una risposta del pari obiettiva, nei limiti pur troppo non molto ampi, che mi sono stati consentiti dal caso.

Nei due anni durante i quali ho eseguite le ricerche surriferite, diversi furono i nefritici accolti nella Clinica Medica di Modena, e nella sala adibita per la Propedeutica, ma soli 3 casi, come i più adatti perchè l'affezione era primitiva, formarono oggetto delle mie indagini, e quindi non è che di questo scarso numero che io ho potuto trar profitto.

Osservazione I^a^. — R. E., d'anni 37, di Fabbrico, contadina, venne accolta in Clinica il 16 febbraio 1897. È ammalata da 1 anno.

Ora si lagna di continua pesantezza al capo, e di dispnea. Ha tosse stizzosa, e obnubilamento della vista.

Obiettivamente si riscontra edema cospicuo agli arti inferiori. Polso frequente (110 al m'.).

L'urina emessa nelle 24 ore è nella quantità media di gr. 2000. Ha colorito pallido; è un po' torbida, con discreto sedimento nubecolare, con R. acida e P. S. = 1022. Contiene notevole quantità di albumina (media di 10 giorni: 8 °/₀₀ all'albuminometro Esbach), assenza di glucosio e peptoni, indicano leggermente aumentato. All'esame microscopico scarsi globuli rossi, molti bianchi, buon numero di cilindri jalini e jalino-granulosi, cellule epiteliali delle vie urinarie e bacteri.

Il 22 febbraio alle ore 14, disinfettata accuratamente la pelle sulla faccia flessoria dell'avambraccio, e aperta con lancetta sterilizzata la vena mediana cefalica destra, con ago di platino sterilizzato, si praticano innesti in varii e numerosi mezzi nutritivi col sangue raccolto nello zampillo.

Tutte le culture rimasero completamente sterili.

Osservazione 2ª. – M. A., d'anni 32, di San Cataldo, povero, è accolto in Clinica il 19 gennaio 1897.

Si lagna di diminuzione di vista e pesantezza di capo.

Obiettivamente edemi agli arti inferiori e alla faccia, area cardiaca leggermente aumentata, polso frequente (100 al m'.).

Quantità media delle urine cm.³ 1200. Color giallo-ambra; scarso sedimento nubecolare; R. debolmente acida; P. S. = 1030. Negativa la ricerca dello zucchero e del peptone; contiene albumina nella proporzione del 6 °/₀₀ (media di 10 giorni). Il sedimento mostrasi costituito da scarse cellule epiteliali delle prime vie urinarie, pochi leucociti e globuli rossi, numerosi cilindri jalini e jalino-granulosi.

Il giorno 30 gennaio alle ore 14, disinfettata accuratamente la regione, si incide la vena mediana cefalica destra, e con ago di platino sterilizzato, si fanno innesti in molti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimasero sterili.

Osservazione 3ª. – B. E., d'anni 12, di Modena, fu accolta in Clinica il 18 febbraio 1897.

La malattia in corso data da 20 giorni, e cominciò con edemi alla faccia che poi si generalizzarono a tutto il corpo. Contemporaneamente l'urina si fece scarsa, e molto colorata in rosso. All'entrata in Clinica era nelle seguenti condizioni.

24 ore prima della sua ammissione cadde in preda a un sopore, dal quale era impossibile farla riavere. Al momento della ammissione si nota, stato sub-comatoso, con attacchi convulsivi generalizzati, che si ripetono a intervalli più o meno frequenti. Col cateterismo si raccoglie una scarsa quantità di urina, che ha color giallo rossastro, R. debolmente acida, P. S. = 1024. Contiene albumina nella proporzione del 4 °/₀₀. L'esame microscopico del sedimento ottenuto per centrifugazione, fa rilevare numerosi globuli rossi e bianchi, parecchie cellule epiteliali, di cui non poche renali in preda a degenerazione granulo-grassa, rari cilindri jalino-granulosi e parecchi sanguigni.

Alle ore 11, colle solite regole antisettiche, si pratica un salasso nella vena mediana cefalica destra, e col sangue che fluisce si fanno, mediante ago sterilizzato, innesti in molti mezzi nutritivi.

Tutte le culture rimasero sterili.

Io sono il primo a riconoscere che il numero dei casi studiati è troppo scarso per permettere delle conclusioni sicure. Ma se si riflette, che uno di essi presentava una gravità estrema, e che l'insuccesso ottenuto non poteva certo considerarsi come conseguenza di un difetto di tecnica, e d'altra parte si con-

sideri, come tali risultati costantemente negativi, armonizzino perfettamente con quelli ottenuti coll'esperimento, mi sembra logico il ritenere, che la conclusione negativa può essere generalizzata.

BIBLIOGRAFIA

HIRSCHLER, Contributo sperimentale allo studio della diarrea uremica. (R. in Gaz. Sped., 1892, pag. 12).

O. SCHAEFFER, Sguardo all'eziologia dell'eclampsia. (Centralbl. f. Gynäkol., 1892, n. 39).

PELS LEUSDEN, Beitrag zur patologischen anatomie der Puerperal eklampsie. (Wirell, Arch., Bd. 142, Hft. l.).

CERDES, zur Aetiologie der Puerperalecklampsie und uber den eklampsiebacillus. (Munch. med. Woch., n. 22 e Deuts. med. Woch., n. 26, 1892).

PUECH, Neuv. Montsi. med. 5 (Sup.), 1892, pag. 669.

FISCHBACH, Munchen med. Woch., 1892, pag. 686.

FAVRE, L'eclampsia è una ptomainemia. (Arch. f. path. Anat., 1892, n. 127).

OLSHAUSEN, Ueber Eclampsie. (Wien. med. Presse, 1892, 402).

COMBERMALE e BUÈ, Soc. de Biol., 1892, 5 e 19 Mars.

TARNIERE e CHAMBRELENT, Toxicité du sérum sanguin dans deux cas d'eclampsie puerperale .(Soc. de Biol., 5 e 27 fev., e Gaz. des. hôp., 22 mars 1892).

HERFF, Zur Theorie der Eklampsie. (Centlalb. f. Gynäk., n. 12, 26 marzo 1892).

DODERLEIN, Natura effettiva dell' eclampsia. (Centralb. f. Gynäcol., 1893, 1).

CHAMBRELENT, Origine microbica dell'eclampsia. (Soc. Ostet. Francese, 5 e 6 Aprile 1893. R. in Gaz. Sped., 1893, pag. 511.).

OUI e SABRAZÈS, Infezione d'eclampsia. (Idem).

PESTALOZZA, Sull'eclampsia puerperale. (R.a Accad. med. chir. di Genova, 5 e 29 Maggio 1893; Gaz. Ospedali, 1893, pag. 701).

SCHMORL, Untersuchungen über Puerperal-Eklampsie. Leipzig, 1893.

ACCONCI, Patogenesi dell'eclampsia (Accad. med. fisica fiorentina, 5 e 28 Giugno 1893; Gaz. Sped., 1893, pag. 1042).

DODERLEIN. Zur Frage der Eklampsiebacillen. (Centralb. f. Gynaec., n. 1-7, 1893).

Heryott, Considerations sur la pathogenie de l'eclampsie puerperale Rev. med. de l'Est, 1893, pag. 65).

Vinay (De Lion), Etiologie et pathologie de l'eclampsie puerperale. (Arch. de méd., 1893. II, pag. 555).

V. Teyxeira, Di un caso di eclampsia uremica. (Il. Morgagni, maggio 1893).

Prof. D. Tibone, Sull'eziologia dell'eclampsia. (Arch. d'Ostet. e Ginec., 1894, pag. 598). Da questo lavoro tolgo la maggior parte delle notizie bibliografiche sull'argomento.

Mya, Patogenesi dell'eclampsia infantile. (La Pediatria, 1894, 1).

Bar e Renon, Esame bacteriologico di 3 casi di eclampsia. (Soc. de Biologie R. in Gaz. Ospedali, 1894, pag. 622).

Azzurrini, Ricerca sulla composizione del sangue delle donne eclampsiche. II° Congresso della Soc. Ital. d'Ostetricia e ginecol. Roma, Ottobre 1896. (An. Ostetricia e Ginecologia, 1896, pag. 265).

Cohn, Riv. d'Ostetricia, Ginec. e Pediatria, 1896, n. 5.

Mangiagalli, An. Ostet. e Ginec., 1896, n. 9.

H. Bucher, Untersuchungen uber die Batterienfeindlichen. (Wirkung des Blutes. Arch. f. Hygiene, v. x, 1890).

De Renzi, Sulla patologia del sangue. III° Congresso di medicina interna. (Riforma medica, 1890, pag. 1531).

Fodor, Nuove ricerche sull'azione bactericida del sangue. (Riforma medica, 1890, pag. 1241).

Charrin e Roger, Arch. de Biologie.

A. Rovighi, Sull'azione microbicida del sangue in diverse condizioni dell'organismo. (Atti della R.ª Accad. med.ª di Roma, vol. 5, Serie II, 1890).

Pruden, Sull'azione germicida del siero del sangue e di altri liquidi dell'organismo. (Riforma medica 1890, pag. 336).

Enderleben, Esperimenti sull'azione antibatterica del sangue normale e patologico. (Riforma medica, II, 1891, pag. 155).

Bakunin e Boccardi, Ricerche sulle proprietà battericide del sangue in diversi stati dell'organismo. (Riforma medica, 1891, III, pag. 445).

Jemma, Ricerche sull'azione germicida del sangue umano. (Riforma medica, 1892, vol. IV, pag. 464).

Ceni, Del potere germicida del sangue nella fatica muscolare. (Riforma medica, 1893. V. II° pag. 274).

Gatti, Sul potere microbicida del sangue durante l'infezione. (Riforma medica, III, 1893, pag. 433).

Bianchi-Mariotti, Potere microbicida del sangue dopo la tiroidectomia. (Riforma medica, 1895, II, pag. 64).

London, Influenza di taluni agenti patogeni sulle proprietà battericbe del sangue. (Accad. des sciences, seance juillet 1896, Riforma medica, an. 1896, II, pag. 773).

D'ABUNDO, Sull'azione bactericida e tossica del sangue degli alienati. (Riv. Sperim. di Freniatria e Med. Legalc, An. XVIII, pag. 212).

ESCHERICH, Die Darmbacterien der Neujehoun und Saüglings. (Fuschritte der met., 1885, n. 16-17 e altro. l. in Centralb. f. Baks. und Parasit., 1887)..

HECHSINGER, Neues über Phys. u. Path. der Verdau in Sow. att. Allg. Wien. med. Zeit., 1888.

ALAPY, Ueber das Verhalten der Wundinfection etneger in Darm Wien. med. presse, 1889.

CORNIL e BABES, Les bacteries, 2ª Edic., Paris, 1886.

GERSNER, Ueber die Bacterien in Duadenum des Menschen. (Arch. f. Hygiene, Bd. IX, Hft. 2, pag. 128).

DUPRÈ, Les infections biliaires, (Thèse de Paris, 1891).

BORDES, Étude sur la putrefaction. — Paris, 1892.

INVECK-HENKERMAUS, Bacterium coli comune. (Inaug. Dissertation, munch., 1892).

BOVET, Contribution a l'étude des microbes de l'intestin grèle. (An. de micrographie, T. III, pag. 353).

MACFADJEN, Nenckhi und Sieber. Untersuch. u. d. Verjünge in menschlichen Dundarm. (Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol., 1891, XXVIII).

MILLER, Deut. med. Woch., 1888, n. 8.

CHARRIN et ROGER, Arch. de Biologie, 1886 e in avanti.

BIENSTOCH, Ueber die bacterien der Facces Zeischrit. der med., 1883, Bd. I, pag. 607.

SUCKSDORF, Arch. f. Hygiene, 1886, vol. IV.

BAGINSKI, Zur Biologie der normal Mikrol bactérien. (Zeitsch. f. phys. u. Chimie., Bd. XII, pag. 434 e Bd. XXIII, pag. 352).

VIGNAL, Recherches sur les microrganismes des matieres fecales et sur leur action sur les subtances alimentaires. (Arch. de Phys., 1887. pag 497).

GILBERT, Soc. de Biologie de Paris. (Riv. in Riforma med., 1894, I, pag. 536).

BERNABEI, Tossicità delle feccie. (Riforma med., 1891, pag. 258).

FERMI, Policlinico, gen. 1896.

DALLEMAGNE, Contrib. à l'étude des microb. du tube gastro-intestinal des cadavres. (Bull. de l'Accadem. R. de med. de Belgique, 1894, Serie IV, T. VIII, n. 10).

CASSIANI, Sulla disinfezione del canale intestinale. (Annali d'igiene sperimentale, VI, fascic. I, 1896).

—— La tossicità delle urine e delle feccie sotto l'azione delle acque clorurato sodiche. (Idem., fascic. V.-VI, 1896).

RIBBERT, Ueber das Volkommen ven Spalzilzen in der normalen Darm, des. Konincheus.

BIZZOZERO, Ueber das constante volkommen ven Bakterien in dem Gin-

polliken des Kaninchen darm. (Cent. f. d. med. Wissench., 1885, n. 49, pag. 801).

KUISL, Beitrage zur Kennitniss der Bacterien in normalen Darms tractus. (Futsc. di medicin, 1886, n. 4, pag. 144).

MANFREDI, Sulla presenza di bacteri noti nei follicoli linfatici dell'intestino. (Giorn. delle Scienze mediche, 1886, Fascic. IV, pag. 318).

FERRANINI, Microbiemie fisiologiche e microbiemie patologiche primarie. (Riforma med, 1895, n. 59-60).

WASMUTH, Centralb. f. Bact. XII, e Gaz. Ospedali, 1893, pag. 328.

FRÄNCKEL, Sul passaggio dei microbi attraverso la membrana dei cisticerchi. (R. in Gaz. Ospedali, 1894, pag. 1560).

CHAUFFARD e VEDAL, Citati nel lavoro prec. da Franckel.

NEISSER Zeitsch. f. Hygiene und Infectionskrank., XXII, I. Bd., 1896.

GALEAZZI, Il Morgagni, maggio 1893.

ACHARD e PULPIN, Sull'invasione dell'organismo da parte dei microbi prima e dopo la morte. (Gaz. Spedali, 1892, pag. 1431).

VURTZ, R. in Gaz. Ospedali, 1892, pag. 1776.

SIMONCINI, Riforma medica, 1897, n. 67.

DOBROKLOUSKI, Arch. de med. exsp., 1 mars, 1890.

BANTI. Setticemie tifiche. (Rif. méd., 1894, vol. III, pag. 674).

ZIEGLER, Studien ueber die intestinale form. der Peritonitis-Munchen, 1893.

MARAGLIANO, Una forma singolare di enterite ulcerativa perforante dell'ileo. (Arch. Clinico Ital., I, 1894. pag. 131).

NOCARD, CHAUVEAU, DASTRE, GALIPPE, Soc. de Biologie, 9 fev. 1896.

FERRANINI, Loc. cit. e contrib. sperim. allo studio delle microbiemie. (Riforma med., nov. 1890).

POSNER, e LEVIN, Autoinfezione d'origine intestinale. (Soc. di Berlino, 6 fev. 1895, e Rif. med., I, 1895, pag. 511).

QUEIROLO, Lez. di chiusura del 1896. (Gaz. Ospedali, 1896, pag. 842).

VANNI, Malattie dell'intestino in Tratt. di Patologia speciale medica. Maragliano-Cantani, 1896.

FISCHER, Arch. f. Path. Anat. u. Phjs., 1893, 49, 134, Hf. 3.

MESSEROTTI-BENVENUTI, Su alcuni fattori dell'intossicamento urinemico. (Gaz. Spedali, n. 65, 1896).

VANNI e MANZINI, Sulla parte che spetta al rene nella patogenesi dell'uremia. (Gaz. Spedali, 1893, n. 150).

Istituto di Anatomia Patologica di Firenze diretto dal Prof. G. Banti.

REVULSIONE E PROCESSI INFETTIVI.

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

DOTT. VITTORIO MARTINI.

L'uso di applicare un revulsivo sopra un punto del corpo allo scopo sia di mitigare gli effetti di una infiammazione svolgentesi negli organi e tessuti sottogiacenti o situati più o meno lontani, sia di facilitare il riassorbimento di essudati già formatisi, rispondeva ad un concetto teorico già formulato da Ippocrate con la frase « *Duobus laboribus simul obortis, non in eodem loco, vehementior obscurat alterum.* » Ed in tutti i tempi e da tutte le scuole la medicatura revulsiva fu accettata in pratica come quella che pareva dovesse avere grande efficacia nel trattamento della maggior parte delle affezioni di natura infiammatoria.

Il meccanismo per cui la azione benefica si produceva fu soggetto di molte discussioni e di controversie sempre rinnovantisi: i concetti dottrinali più svariati si succedevano gli uni agli altri senza che nessuno fosse in grado di soddisfare pienamente. Ancora nel novembre 1855, in una memorabile seduta dell'Accademia di Medicina di Parigi, il Malgaigne notava la mancanza di una vera dottrina sulla revulsione. Chi attribuiva allora l'efficacia dei revulsivi ad una presunta loro proprietà di spostare la infiammazione, traendola da un luogo ad un altro; chi invocava come intermediario i mutamenti che l'azione del revulsivo induceva nella circolazione, o negli scambî polmonari, e via dicendo.

Quando all'epoca delle pure discussioni teoriche seguì anche in medicina quella delle ricerche sperimentali, numerosi studî furono fatti intorno al meccanismo d'azione dei revulsivi

in genere, dei vescicanti cantaridati (come quelli di uso più largo e di più comune applicazione) in specie. Questi studi però erano rivolti esclusivamente o quasi a vedere quali erano gli effetti che la revulsione produceva nell' organismo dal punto di vista, dirò così, fisiologico: cioè quale influenza aveva sulla circolazione, sullo stato di ripienezza maggiore o minore dei vasi sanguigni, sugli scambi respiratorî, sulla temperatura locale e generale, sul ricambio materiale, e simili. I risultati di queste ricerche, messi in relazione con quello che si sa dalla Patologia generale intorno al processo infiammatorio, alla formazione ed al riassorbimento degli essudati, dovevano in qualche modo servire a spiegare gli effetti che i medici ritenevano si avessero dall' uso dei revulsivi, o quanto meno a mettere in chiaro se veramente essi erano in grado di produrre un qualche effetto sui processi flogistici.

Ma nessuno, che io sappia, aveva pensato a studiare direttamente l' argomento coi mezzi che la patologia sperimentale, e specialmente la batteriologia, mette oggi a nostra disposizione.

Produrre negli animali un processo infiammatorio e quindi seguire il decorso di questo processo con e senza l'applicazione di revulsivi, studiare se e quale influenza i revulsivi esercitino sulle infezioni locali e generali, osservare e studiare anatomicamente le lesioni prodotte dalla infiammazione in rapporto a quelle dovute al revulsivo, e se e come le prime siano modificate per effetto di questo, ecco lo scopo che mi sono prefisso nell' eseguire queste ricerche.

Al prof. Banti che mi ha proposto questo studio e permesso di eseguirlo nel suo Laboratorio di Anatomia Patologica, e che mi è stato largo di consigli e di aiuto, sento qui il dovere, prima di ogni altra cosa, di attestare la mia gratitudine.

Ho adoperato come mezzi revulsivi la cantaridina da una parte, le termo-cauterizzazioni dall' altra, come quelli che sono i più comunemente usati nella pratica medica giornaliera.

Ho esperimentato quasi sempre su conigli, prestandosi questi animali abbastanza bene alla produzione di processi in-

fiammatori locali, e di infezioni generali; mi sono servito di cavie soltanto per studiare gli effetti della revulsione sulla peritonite diplococcica, come in appresso dirò.

Avevo pensato dapprima di adoperare la cantaride sotto forma dei soliti vescicanti, come si usa per gli uomini, ma vidi subito che negli animali questo sistema, oltre che essere di difficile applicazione perchè richiede l'uso di cerotti e di fasce, non produceva che una leggerissima infiammazione negli strati più superficiali della pelle, e talvolta non ne dava affatto. Provai ad adoprare l'olio ed il collodio cantaridato come si usa da certi pratici, ma anche questi preparati avevano l'inconveniente di una troppo grande mitezza; e mi rivolsi allora al principio attivo, alla cantaridina pura. Scioglievo della cantaridina di Merck fino a saturazione in etere acetico, ed aggiungevo della celloidina sino ad avere un collodione di consistenza sciropposa non troppo densa: con questo spennellavo abbondantemente la pelle degli animali da esperimento, accuratamente rasata.

Per le cauterizzazioni ho adoperato il termo-cauterio del Paquelin, facendo con esso delle linee incrociantesi a modo di reticolato, alla distanza di 0.5-1 cm. l'una dall'altra: avevo così la possibilità di agire sopra una larga superfice senza produrre d'altra parte un' escara troppo estesa.

Ho eseguito tutti gli esperimenti in modo da avere sempre animali di confronto.

Le ricerche hanno portato sui processi infiammatorî del tessuto sottocutaneo e del peritoneo; tra le cavità sierose mi sono limitato a questa, poichè le altre, come le pleurali e le articolari, per la loro profonda situazione male si sarebbero prestate allo studio istologico a tutto spessore della parte, come era mia intenzione di fare.

I batteri che hanno servito per la produzione delle diverse affezioni sono stati: lo *stafilococco piogene aureo*, di diversa virulenza, lo *streptococco piogene*, esso pure or più or meno virulento, il *diplococco lanceolato capsulato*, il *bacillo della tubercolosi*, e l'*actinomices ocraceus*.

Quando ho dovuto fare ricerche batteriologiche mi sono

servito per la colorazione sui vetrini dei comuni sistemi, e per le colture del metodo delle disseminazioni su agar, secondo il Banti.

I pezzi da esaminare istologicamente furono fissati in alcool od in formalina al 4 %, prestandosi questi mezzi assai bene alla conservazione dei batteri; poi induriti in alcool, inclusi in celloidina o paraffina, e le sezioni colorate coi varî carmini e picrocarmini, emateina ed orange, emateina ed eosina, e con diversi colori di anilina: per la ricerca dei batteri nei tagli mi sono servito dei metodi di Löffler, Gram, Weigert, Ziehl, ecc.

Ed ora riferirò le esperienze, ordinandole a seconda della località in cui si svolse il processo morboso, e del batterio adoperato.

I. — Infiammazione del tessuto sottocutaneo.

A. Stafilococciche.

I. 12 agosto 1896. — Ad un coniglio di mediocre grandezza inoculo sotto la pelle della parete laterale dell'addome, da un lato e dall'altro, 1/4 di cc. di coltura in brodo di 24 ore di *staph. pyog. aur.* ricavato da un flemmone. Poi a sinistra ricopro buon tratto di pelle, sopra ed intorno al punto di inoculazione, con collodione cantaridinato.

13 agosto 1896. — Nuova spennellatura col collodione.

17 » » — Uccido l'animale.

A destra tumefazione grande quanto una piccola nocciuola, coperta da pelle lucente, rossa. Sotto ad essa piccola cavità ascessuale contenente pus bianco, cremoso, piuttosto denso, che all'esame microscopico si dimostra ricchissimo di stafilococchi.

A sinistra, tolto con etere il collodione, si vede che la superficie cutanea presenta lo strato corneo come rigonfio e facilmente distaccabile. La pelle è ispessita, iperemica, edematosa; sotto ad essa si trovano grumi di pus nuotanti in un liquido edematoso, raccolto in una cavità non così bene circoscritta come a destra. Nei vetrini numerosi stafilococchi. Nulla di particolare nei visceri.

Colture per disseminazione: tanto da quelle fatte col pus di destra come da quello di sinistra, si sviluppa abbondante e puro lo stafilococco aureo

Esame istologico. — *Parte senza revulsivo.* — Nulla di notevole dal lato della pelle: leggiero edema ed infiltrazione parvicellulare tra le fibre del muscolo pellicciaio. Sotto ad esso uno straterello di lasso connettivo ricco

di leucociti con alcune cellule epitelioidi: più sotto uno strato formato quasi esclusivamente da cellule di pus e di linfociti. Cogli adatti metodi si trovano in questo strato numerosissimi cocchi, la più parte liberi, alcuni inclusi nei fagociti. In nessun'altra parte della sezione si osservano microrganismi.

Parte con revulsivo. — Mancano gli strati più superficiali dell' epidermide: le cellule epiteliali dello strato più profondo sono rigonfie, tumefatte, come idropiche. In alcune di esse il nucleo si colora pallidamente, in altre non si colora affatto. Fasci connettivali del derma dissociati, rigonfi, edematosi; tra essi numerosi elementi parvicellulari. Le fibre del pellicciaio sono fortemente separate una dall' altra, e tra esse numerosissimi leucociti. I vasi sono fortemente iperemici. Andando più profondamente si ha un grosso strato fatto da radi fascetti connettivali assai lontani tra di loro, in mezzo a cui si notano molti elementi parvicellulari ed alcune cellule epitelioidi. Cogli adatti metodi si dimostrano in questo strato moltissimi stafilococchi; i più di essi liberi, alcuni inclusi in fagociti: negli strati più vicini alla superficie cutanea si trovano pure alcuni stafilococchi ora liberi, ora contenuti nelle cellule.

Come si vede, le differenze tra la parte su cui fu applicato il revulsivo, e quella su cui non fu messo, tolte le alterazioni dovute nella prima alla dermite piuttosto intensa, sono leggiere, e non consistono che in una meno netta delimitazione del pus, e nella presenza di batteri anche negli strati superficiali da quel lato ove era stata fatta la spennellatura col collodione cantaridinato.

II. 12 agosto 1896. — Ad un coniglio di mediocre grandezza inoculo lo staf. piog. nella stessa quantità e luoghi, come nel coniglio dell' esperienza I. Poi a sinistra faccio spennellature di collodione cantaridinato.

13 agosto 1896. — Nuova spennellatura.

Nei giorni seguenti si forma a destra una tumefazione che arriva alla grandezza di una nocciuola e poi si apre dando esito a del pus biancastro, denso: a sinistra sembra pure si formi una tumefazione che però si osserva male perchè coperta dal collodione, che non si apre all' esterno.

25 agosto 1896. — Uccido l' animale.

A destra piccolo ascesso contenente poco pus biancastro, aperto esternamente: a sinistra la epidermide si distacca facilissimamente dai sottostanti tessuti: nel sottocutaneo un poco di pus stratificato, biancastro, raccolto in una cavità non ben limitata. Tanto nel pus preso a destra, che in quello di sinistra numerosi stafilococchi.

Nulla di notevole nel resto dell'animale. Dalle colture stafilococco aureo puro.

Esame istologico. — *Parte senza revulsivo.* — Gli stessi fatti che nel coniglio I, salvo l'assottigliamento assai notevole della pelle e la necrosi di questa intorno al punto dove avvenne l'apertura dell'ascesso all'esterno.

Parte con revulsivo. — Mancanza degli strati superficiali dell'epidermide: lieve tumefazione dei profondi. Connettivo dermico dissociato, ma non quanto nel coniglio I: minore l'infiltrazione parvicellulare; minore l'iperemia. Lo strato purulento è meno alto: vi si trovano numeros stafilococchi, di cui alcuni inclusi nelle cellule: scarsissimi stafilococchi nel derma.

Come nella esperienza I, così in questa si vede che le differenze tra la parte su cui fu applicato il revulsivo e l'altra, sono molto leggere, e consistono essenzialmente nella dermite provocata dal collodione cantaridinato. Qui le lesioni di dermite sono molto più leggere che nel coniglio soggetto della esperienza I, evidentemente perchè l'animale essendo stato ucciso 12 giorni dopo l'ultima applicazione del revulsivo, le alterazioni determinate da questo dovevano in gran parte già essere riparate.

***

III. *Cinque conigli.* — Ogni animale riceve sotto la pelle del fianco 1,5 cc. di una emulsione fatta stemperando in 8 cc. di brodo comune 5 colture per strisciamento su agar dell'età di 24 ore di staph. pyog. aur. ricavato da un flemmone della mammella. Tre animali, A, B, C, sono lasciati senza revulsivo; gli altri due, D e E sono soggetti alla revulsione per mezzo del collodione cantaridinato: la prima applicazione del revulsivo si fa in D subito dopo la inoculazione, in E dopo 48 ore.

A., pesa 1250 gr.

22 marzo 1897. — Faccio la inoculazione.

24 marzo 1897. — Muore. Al punto d'inoculazione infiltramento ed edema del sottocutaneo con piccole chiazze emorragiche. Leggera peritonite da propagazione. Nella sierosità del tessuto sottocutaneo moltissimi stafilococchi. Dalle colture fatte col sangue nasce abbondante e puro lo stafilococco.

B., pesa 1240 gr.

22 marzo 1897. — Faccio la iniezione.

Nei giorni seguenti si forma un infiltramento cospicuo, che si diffonde intorno al punto d'inoculazione fino sulla faccia anteriore dell'addome.

27 marzo 1897. — Muore. Infiltrazione purulenta che occupa il tessuto sottocutaneo di tutta la parete laterale ed anteriore dell'addome: nulla nel peritoneo nè nei visceri. Nel pus moltissimi stafilococchi. Le colture fatte col sangue restano sterili.

Esame istologico. — Epidermide normale: edema, infiltrazione parvicellulare discreta ed iperemia del derma: il tessuto sottocutaneo mutato in un tessuto di aspetto necrotico, ricco di globuli di pus. In questo strato moltissimi stafilococchi i più liberi, alcuni inclusi nelle cellule: rari stafilococchi tra i fasci connettivali del derma.

C., pesa 1390 gr.

22 marzo 1897. — Inoculazione.

24 marzo 1897. — Muore. Infiltrazione siero-purulenta circoscritta al luogo di iniezione: forte edema all'intorno. Peritoneo e visceri non presentano nulla di particolare.

Dalle colture fatte col sangue del cuore si sviluppa puro ed abbondante lo stafilococco.

D., pesa 1910 gr.

22 marzo 1897. — Inoculazione. Spennellatura di collodione cantaridinato.

Al punto d'inoculazione si viene a poco a poco formando un ascesso del volume di una grossa noce. Si ripetono le applicazioni del revulsivo i giorni 24 e 29 marzo.

6 aprile 1897. — Muore. Cavità ascessuale al punto di inoculazione che contiene due cucchiaiate circa di pus bianco cremoso piuttosto sciolto, ricchissimo di stafilocochi. Le colture fatte col sangue del cuore restano sterili.

Esame istologico. — Scomparsa degli strati più superficiali dell'epidermide, tumefazione e debole colorabilità delle cellule degli strati più profondi. Dissociati i fasci connettivali del derma ed i muscolari del pellicciaio, con abbondante infiltrazione parvicellulare tra essi. Nel tessuto sottocutaneo grosse masse necrotiche, e numerosissimi globuli di pus. Modica iperemia vasale. Abbondantissimi stafilococchi negli strati più profondi, in scarso numero anche tra le fibre del pellicciaio e tra i fasci connettivali del derma.

E., pesa 1185 gr.

22 marzo 1897. — Inoculazione.

24 marzo 1897. — Applicazione di collodione cantaridinato.

25 marzo 1897. — Muore. Infiltrazione bianco-giallastra al punto di inoculazione con edema all'intorno. Peritonite da propagazione con deposito di scarsi e sottili straccetti di fibrina sugli organi. Numerosissimi stafilococchi nella sierosità peritoneale e nel materiale costituente la infiltrazione sottocutanea.

Dalle colture fatte col sangue del cuore nasce puro ed in abbondanza lo stafilococco aureo.

Ho creduto inutile fare l'esame istologico della pelle in questo come pure nei conigli A e C, perchè nulla di speciale avrei potuto osservare.

In questa serie di esperimenti lo stafilococco aureo inoculato a 5 animali ha determinato la morte di tutti in uno spazio di tempo variabile da 2 a 15 giorni: tre volte (A, C, E) producendo la setticemia come è dimostrato dal reperto batteriologico positivo del sangue; due volte (B, D) limitandosi a dare alterazioni locali. Uno di questi animali (D), riceve tre applicazioni di collodione cantaridinato, di cui la prima subito dopo l'inoculazione del batterio: esso resiste più di tutti alla infezione. Ma un altro pure subisce (E) l'azione del revulsivo, e questo muore al terzo giorno dalla inoculazione. Ed in quello si è formata una cavità ascessuale, precisamente come nel coniglio B che non fu sottoposto alla revulsione: ed in E l'applicazione del collodione non impedì la setticemia e la rapida morte dell'animale.

B. Streptococciche.

I. *Due conigli.* — Ad ognuno di essi si introduce sotto la cute del fianco una coltura per infissione in agar di 48 ore di streptococco piogene di fresco ricavato da una vegetazione endocarditica. Uno (A) è lasciato senza revulsivo. L'altro (B) viene subito dopo spennellato con collodione alla cantaridina.

A., 22 dicembre 1896. — Inoculazione.

28 dicembre 1896. — Si è formato un voluminoso ascesso contenente del pus bianco-latteo piuttosto fluido. La pelle nel punto di mezzo dell'ascesso è assottigliata e prossima a perforarsi. Il pus ricchissimo di streptococchi: dalle culture nasce puro lo streptococco piogene.

Si asportano dei pezzetti di parete dell' ascesso che si fissano in formalina. Si ricuce. L' animale sopravvive all' operazione.

Esame istologico. — Epidermide sana: lieve edema del derma e del pellicciaio con scarsa infiltrazione parvicellulare. Connettivo del tessuto sottocutaneo dissociato, ricco di elementi cellulari mono e polinucleati. Più profondamente masse necrotiche abbondanti, numerosissime cellule di pus. Numerosi streptococchi che si limitano a questo strato.

B., 22 dicembre 1896. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

28 dicembre 1896. — Si è formato un ascesso del volume di una mandorla, contenente del pus biancastro, denso. La pelle è assai ispessita. Il pus è ricchissimo di streptococchi: dalle colture si ha puro lo streptococco piogeno. Si asportano pezzi di parete come in A. Si ricuce. L'animale sopravvive.

Esame istologico. — Strati superficiali della epidermide caduti: tumefatte le cellule dei più profondi. Fasci connettivali del derma dissociati, con ricca infiltrazione parvicellulare; lo stesso dicasi dei fascetti muscolari del pellicciaio, dove l' infiltrazione è abbondantissima. Al di sotto esiste uno strato ricco di cellule di pus e di masse necrotiche. Numerosi cocchi isolati o a catenelle più o meno lunghe in questo strato. Negli strati più superficiali non si osservano affatto cocchi.

In questa esperienza dunque l'applicazione del revulsivo parrebbe aver limitato la formazione del pus, ed impedito la tendenza di questo a portarsi verso l'esterno.

*
* *

II. *Quattro conigli.* — Inietto sotto la cute del fianco ad ognuno di essi 1 cc. di una emulsione formata stemperando in 5 cc. di brodo 2 colture per disseminazione su agar dell'età di 48 ore di streptococco piogene ricavato da un trombo in una infezione puerperale.

Uno di questi animali (A) serve di confronto: negli altri si pratica la revulsione con collodione alla cantaridina.

A., 22 gennaio 1897. — Inoculazione. Si va formando a poco a poco un nodulo dapprima duro, poi di consistenza pastosa che 15 giorni dopo la iniezione ha raggiunto la grossezza di una noce.

B., 22 gennaio 1897. — Inoculazione. Applicazione del revulsivo.

24 gennaio 1897. — Altra applicazione.

28 gennaio 1897. — Muore. Piccola raccolta di pus denso, cremoso al punto di iniezione: la pelle dove fu applicato il collodione aumentata di spessore. Leggera coccidiosi del fegato: ecchimosi sotto-pleuriche bilaterali. Nel pus numerosissimi streptococchi. Colture per disseminazione dal sangue del cuore: sterili.

C., 22 gennaio 1897. — Inoculazione.

24, 30 gennaio e 4 febbraio 1897, applicazioni di collodione cantaridinato. Al punto di inoculazione si va formando un nodulo duro dapprima, che poi si rammollisce in modo da costituire dopo 16 giorni dall'iniezione del batterio un ascesso grande quanto un uovo, prossimo ad aprirsi all'esterno.

D., 22 gennaio 1897. Inoculazione.

30 gennaio e 4 febbraio 1897. — Applicazioni del solito revulsivo. Al punto di iniezione si ha dopo 15 giorni un nodulo di consistenza molle, fluttuante, grande quanto una grossa noce.

Dei quattro animali di questa serie, inoculati con eguale quantità di streptococchi, vediamo uno (B) venire a morte al 6° giorno dalla inoculazione per una causa non precisata, ma alla quale certo non doveva essere estranea la coccidiosi epatica che lo metteva in stato di minore resistenza organica; gli altri tre sopravvivere e svilupparsi in essi in conseguenza della iniezione di streptococchi un ascesso del tessuto sottocutaneo abbastanza voluminoso.

Non si notano in questi animali differenze rilevanti di decorso, benchè di essi uno (C) abbia subito tre volte l'applicazione del revulsivo, un altro (D) due volte, ed il terzo (A) nessuna. La revulsione qui non ha dunque impedito il formarsi dell'ascesso, non ne ha sensibilmente modificato lo sviluppo, e neppure ne ha facilitato il riassorbimento, essendo al momento in cui si abbandona l'osservazione tutti e tre stazionarî.

Ho creduto inutile in questa esperienza fare l'esame istologico delle pareti ascessuali, ritenendo che da esso nulla di nuovo sarebbe risultato da aggiungersi alle osservazioni precedenti.

*
* *

III. *Sei conigli.* — Ognuno di essi riceve sotto la pelle del fianco 1 cc. di una emulsione formata stemperando in 6 cc. di brodo 6 colture per disseminazione su agar dell'età di 48 ore di streptococco piogene recentemente ricavato da vegetazioni endocarditiche di una donna morta per infezione puerperale. Tre conigli (A, B, C) sono lasciati a sè: gli altri (D, E, F) sono sottoposti alla revulsione per mezzo di ripetute spennellature di collodione cantaridinato, facendosi la prima di queste applicazioni subito dopo la iniezione del batterio.

A., del peso di gr. 670.
25 febbraio 1897. — Inoculazione. Si formano al punto di iniezione due nodulini dapprima duri, poi più molli, che in un mese circa raggiungono la grossezza di una nocciuola.

B., del peso di gr. 1280.
25 febbraio 1897. — Iniezione.
27 febbraio 1897. — Muore. Edema siero-sanguinolento al punto d'inoculazione. Visceri congesti. Colture per disseminazione del sangue del cuore: si sviluppa puro lo streptococco piogeno.

C., del peso di gr. 1880.
25 febbraio 1897. — Iniezione.
5 marzo 1897. — Muore. Al punto d'inoculazione nel tessuto sottocutaneo essudato denso, giallastro, non molto abbondante. Un poco di essudato di aspetto simile si osserva tra le parti molli che circondano l'articolazione del ginocchio destro. Numerosi streptococchi in questo essudato. Colture per disseminazione dal sangue del cuore: streptococco piogene puro.

D., del peso di gr. 800.
25 febbraio 1897. — Iniezione. Applicazione del revulsivo.
26 febbraio 1897. — Muore. Edema siero-sanguinolento al punto di iniezione. Visceri congesti. Dal sangue del cuore si sviluppa puro lo streptococco.

E., del peso di gr. 780.
25 febbraio 1897. — Iniezione. Applicazione del revulsivo.
26 febbraio 1897. — Muore. Edema siero-sanguinolento al punto di iniezione. Visceri congesti. Colture dal sangue del cuore: streptococco puro.

F., del peso di gr. 1180.

25 febbraio 1897. — Iniezione, applicazione del revulsivo.

26 febbraio 1897. Muore. Abbondante edema siero-sanguinolento al punto di inoculazione. Visceri congesti. Dal sangue del cuore nasce in coltura lo streptococco puro.

Lo streptococco adoprato per questa esperienza ha dimostrato di essere abbastanza virulento. Di sei conigli inoculati, uno solo è sfuggito alla morte ed ha presentato soltanto il quadro di una affezione locale ad andamento piuttosto lento: degli altri, uno ha resistito fino all'ottavo giorno dalla iniezione, e poi è soccombuto presentando anch'esso le note caratteristiche della setticemia: i rimanenti sono tutti morti dopo un giorno, per setticemia. Si noti che gli animali ai quali fu applicato il revulsivo, immediatamente dopo la inoculazione del batterio (D, E, F) sono morti dopo 24 ore circa, precisamente come B nel quale non si era proceduto alla revulsione. Questa parrebbe dunque non avere affatto attenuata la gravità dell' infezione o ritardato la produzione della setticemia: anzi, se si tien conto di A che sopravvisse e di C che resistè otto giorni, sembrerebbe avere affrettato la morte degli animali.

***

IV. *Cinque conigli.* — Ad ognuno di essi si inietta sotto la cute del fianco 1 cc. di una emulsione preparata stemperando in 5 cc. di brodo tre colture per strisciamento su agar dell'età di 48 ore di streptococco piogene ricavato da una infezione puerperale. Uno degli animali (A) serve di confronto: B e C vengono ripetutamente spennellati con collodione cantaridinato, nel primo cominciando subito dopo la inoculazione del batterio, nel secondo dopo 5 giorni: in D e E si praticano ripetute cauterizzazioni col Paquelin nel modo che sarà descritto, cominciando in D subito dopo la iniezione, in E dopo 5 giorni.

A., del peso di gr. 1410.

7 aprile 1897. — Inoculazione. Nei giorni seguenti si forma a poco poco un noduletto che, dapprima piccolo e duro, raggiunge dopo 20 gior

la grandezza di una nocciuola e una consistenza pastosa, mentre l'animale va diminuendo di peso fino a 1110 gr.: poi il nodulo diminuisce, sino ad essere 40 giorni dopo la iniezione grosso quanto un cece, ed il peso si rialza fino a 1370 gr.

B., del peso di gr. 1180.

7 aprile 1897. — Inoculazione. Applicazione del collodione cantaridinato.

Altre applicazioni del revulsivo si fanno a distanza di 2, 5, 13, 15, 20, giorni dalla iniezione. Al punto di inoculazione si sviluppa a poco a poco un nodulo che nello spazio di 20 giorni raggiunge la grossezza di una nocciuola ed ha una consistenza pastosa: resta per qualche tempo di volume stazionario e dopo un mese comincia a diminuire di grossezza: l'animale frattanto va costantemente scemando di peso fino a 685 gr.

C., del peso di gr. 1520.

7 aprile 1897. — Inoculazione. Si fanno applicazioni di collodione cantaridinato a distanza di 5, 9, 13, 16, 20 giorni dalla inoculazione. Si forma un nodulo che nel suo accrescimento si comporta come quello del coniglio B: l'animale raggiunge dopo 20 giorni dalla iniezione il peso di 1220 grammi: quindi questo aumenta regolarmente, ma di poco.

D., del peso di gr. 1550.

7 aprile 1897. — Inoculazione. Poi sulla pelle soprastante al punto dell'iniezione eseguisco col termo-cauterio del Paquelin portato al calore rosso, delle cauterizzazioni lineari, in numero di cinque orizzontalmente e cinque verticalmente, in modo da formare un reticolato di cui le linee sono distanti 1 cm. l'una dall'altra.

Le susseguenti cauterizzazioni si praticano nello stesso modo a 7, 13, 20 giorni dalla iniezione. Si forma frattanto un nodulo che in 20 giorni circa arriva alla grossezza di una nocciuola, di consistenza pastosa, ed un mese dopo la iniezione si apre all'esterno, dando esito a del pus biancastro, denso.

L'animale scema dapprima di peso, fino a 1230 gr. 18 giorni dopo la iniezione; poi rialza in modo da avere dopo 40 giorni il peso di gr. 1420.

E., del peso di gr. 1300.

7 aprile 1897. — Inoculazione. Si fanno cauterizzazioni al solito modo a 5 e 20 giorni di distanza dall'iniezione. Si sviluppa un nodulo che dopo 20 giorni ha raggiunto la grossezza di una nocciuola e si apre all'esterno dando esito a pus denso, biancastro. Il peso dell' animale che dopo 16 giorni dalla iniezione è di 930 gr. rialza dipoi per arrivare, al 40° giorno, a 1175 gr.

Mi sembra che da questa esperienza appaia chiaramente come la revulsione non abbia per nulla modificato l'andamento della affezione del tessuto sottocutaneo. Di fatti nei cinque conigli inoculati con lo streptococco si è sviluppato un ascesso sotto la pelle tanto lentamente da impiegare una ventina di giorni per raggiungere il volume di una nocciuola. Se la revulsione fosse in grado di portare una qualche modificazione nei processi flogistici, proprio questo sarebbe stato il caso in cui la sua azione avrebbe dovuto meglio e maggiormente esplicarsi, data la lentezza del processo e la poca virulenza del batterio adoperato, che non ha avuto affatto tendenza a generalizzarsi, e si è limitato a dare un lieve processo locale.

Orbene: noi vediamo che i due conigli trattati a più riprese col collodione cantaridinato, ed i due pure a varie riprese cauterizzati, si sono comportati precisamente nello stesso modo di quello in cui la revulsione non è stata praticata. In tutti egualmente si è avuta per qualche giorno soltanto una lieve infiltrazione del tessuto sottocutaneo, la quale poi si è raccolta a formare un nodulo a lentissimo accrescimento: in tutti il nodulo è arrivato nello stesso tempo ad un medesimo volume, ed il processo di riassorbimento sembra essersi comportato nello stesso modo. Come unica differenza si è avuta l'apertura e lo svuotamento all'esterno della raccolta purulenta nei conigli D ed E: ma si comprende come questo debba facilmente accadere negli animali cauterizzati per la necrosi della pelle prodotta dall'azione del calore, e per il conseguente assottigliarsi della parete ascessuale.

Farò infine osservare come anche l'andamento della reazione generale dell'organismo, di fronte alla introduzione dei microrganismi in esso, sia stato in tutti gli animali sensibilmente eguale, come si ricava dal peso di essi che in tutti è andato scemando fino ad un minimum coincidente col maggiore sviluppo del processo batterico locale, per rialzare lentamente di poi, a mano a mano che si produceva il riassorbimento dell'essudato o il suo versarsi al di fuori: e senza che su di esso abbia affatto influito l'applicazione del revulsivo.

Non ho creduto di dover procedere alla esportazione di

pezzi di parete dell' ascesso per l' opportuno esame istologico, affine di non dover uccidere alcun animale, od almeno di non dover portare ad essi dei traumatismi che potessero influire sul seguito dell' esperimento. Del resto, non c' era ragione di ritenere che in questa esperienza l' esame istologico dovesse rivelarci qualcosa di nuovo.

C. **Tubercolari.**

Le culture dei bacilli tubercolari adoperate in queste esperienze erano dotate di virulenza assai lieve, di guisa che, iniettate sotto la pelle dei conigli anche in discreta quantità, determinavano un processo locale a decorso cronico, al quale solo dopo molto tempo succedeva la generalizzazione delle tubercolosi. Tale circostanza, dannosa in esperienze d'altro genere, era invece desiderabile nelle mie, prima di tutto perchè io intendevo studiare l'influenza dei revulsivi sul processo tubercolare locale e non sulla tubercolosi generale, in secondo luogo perchè, se la revulsione era in grado di esercitare un'azione benefica, era da sperarla più facilmente di fronte a batteri poco virulenti anzichè di fronte a quelli dotati d'un energico potere patogeno.

I. *Tre conigli.* — Ognuno di essi riceve sotto la pelle del fianco $^3/_4$ di cc. di una emulsione preparata stemperando in 5 cc. di brodo comune due tubi di coltura in agar glicerinato di bacillo della tubercolosi umana dell'età di 22 giorni. Dei tre animali uno (A) serve di confronto: in C e B si pratica la revulsione con collodione cantaridinato facendo la prima spennellatura in C subito dopo la iniezione del batterio, in B al quinto giorno.

A., del peso di gr. 1510.

10 febbraio 1897. — Inoculazione. Al punto di iniezione si va sviluppando a poco a poco un noduletto prima duro, poi di consistenza pastosa, che al 9° giorno dalla iniezione ha la grossezza di una mandorla e tale si mantiene in seguito per il periodo in cui l'animale è tenuto in osservazione. Il peso dell'animale scende in questo periodo fino a 1435 gr.

B., del peso di gr. 1140.

10 febbraio 1897. — Inoculazione. Si fanno applicazioni di collodione cantaridinato al 5°, 16°, 20° giorno dalla iniezione. Si sviluppa un nodulo prima duro, poi più molle, che al 20° giorno ha la grossezza di una mandorla. Il peso dell'animale decresce progressivamente, fino ad arrivare a gr. 920 il dì 4 marzo 1897 in cui uccide il coniglio.

Corrispondentemente al punto di inoculazione, sotto la pelle, esiste un ascesso del volume di una grossa mandorla, contenente del pus biancastro denso, in cui coll'esame microscopico si trovano numerosi bacilli tubercolari a gruppi, a coppie, e separati. Nulla di particolare nel resto dell'animale.

Esame istologico della parete ascessuale. Negli strati più superficiali si riscontrano gli stessi fatti già più volte descritti prodotti dal revulsivo. Al disotto del pellicciaio si trova uno straterello formato da fasci connettivali assai allontanati l'uno dall'altro, e tra i quali è raccolta una grande quantità di cellule, di cui la massima parte ha l'aspetto di linfociti: alcune poche sono polinucleate, altre hanno l' apparenza di cellule epitelioidi. Questo strato non è evidentemente altro che il sottocutaneo riccamente infiltrato. Sotto ad esso si passa quasi insensibilmente ad uno strato in cui non si riconosce chiaramente una struttura cellulare, ma che ha piuttosto l'aspetto di una sostanza necrotica, colorantesi uniformemente e pallidamente. Nella zona di passaggio tra il tessuto sottocutaneo infiltrato e questo strato necrotico, cioè là dove ancora si riconosce una struttura cellulare, si scorgono delle cellule grosse, contenenti gran numero di nuclei vescicolari, poveri di cromatina, ora raccolti nel centro della cellula, ora disposti verso la periferia più o meno regolarmente. La infiltrazione cellulare non è disposta attorno a queste cellule giganti in modo tale da dare l'aspetto classico del tubercolo. Nei preparati coloriti cogli adatti metodi si scorgono nello strato necrotico bacilli tubercolari in quantità non tanto grande, disposti irregolarmente a gruppetti, o a coppie, o isolati. Di essi se ne trova qualcuno anche tra i nuclei di quelle cellule giganti che sopra si sono descritte, ma in verità rarissimi. Non si riesce a vederne alcuno nelle parti più superficiali del tessuto sottocutaneo, nè nel pellicciaio, nè nel derma.

C., del peso di gr. 1470.

10 febbraio 1897. — Inoculazione. Applicazione del collodione cantaridinato.

Altre applicazioni si fanno a 5, 16, 20 giorni dalla iniezione. Si sviluppa un nodulo che crescendo a poco a poco, acquista in 12 giorni la grandezza di una mandorla, piuttosto consistente. A partire da quest tempo, si ha un rapido aumento del nodulo che al 21° giorno dalla iniezione è grosso quanto un uovo, molle, fluttuante. Il peso dell'animale va lentamente decrescendo fino ad un peso di 1240 gr. il dì.

3 marzo 1897. — Aspiro con una siringa dall'ascesso alcune gocce di pus liquido bianco-grigiastro. Facendo con esso dei preparati, si vedono numerosi bacilli tubercolari e numerosissimi e minuti cocchi disposti a mucchi, a catene, o isolati, non colorabili collo Ziehl, resistenti al Gram. Faccio colture per disseminazione su agar: tutti i tubi seminati restano sterili.

Da questa esperienza dobbiamo togliere il coniglio C nel quale si è avuta una infezione associata, prodotta o al momento della inoculazione (il che mi sembra poco probabile visto che le differenze nel modo di presentarsi della affezione del tessuto sottocutaneo di questo in confronto degli altri animali cominciarono solo al 12° giorno circa dalla iniezione) o più verisimilmente dipoi, trovando forse il suo punto di ingresso da qualche escoriazione prodotta dal revulsivo.

Considerando dunque solo gli altri due animali, vediamo che la iniezione del bacillo tubercolare ha portato alla formazione di un ascesso di natura specifica nel tessuto sottocutaneo: esso si è sviluppato lentamente ed ugualmente nei due animali, sebbene uno di essi sia stato a più riprese sottoposto all'azione del revulsivo. L'esame istologico praticato sul coniglio B non ci ha fatto vedere nulla di diverso (salvo la desquamazione dell'epidermide e la infiltrazione parvicellulare del derma e del pellicciaio, che sappiamo per le precedenti osservazioni essere l'effetto diretto della applicazione del collodione cantaridinato) da quello che si osserva per la semplice iniezione sottocutanea di bacilli tubercolari. Anche qui dunque siamo costretti ad ammettere che la revulsione non ha avuto nessuna particolare influenza sul decorso dell'affezione.

***

II. *Quattro conigli.* — A ciascuno di essi inoculo sotto la pelle del fianco 1 cc. di una emulsione preparata, stemperando in 6 cc. di brodo 4 tubi di coltura su agar glicerinato di bacillo tubercolare dell'età di 35 giorni. Uno degli animali (A) serve di confronto: B è trattato con collodione cantaridinato: C e D con le termo-cauterizzazioni fatte nel modo già detto, e delle

quali la prima in C è praticata subito dopo la iniezione, in D due giorni dopo.

A., del peso di gr. 1085.

1 aprile 1897. — Inoculazione. Sviluppo di un nodulo che cresce lentamente sino al volume di una grossa nocciuola, di consistenza pastosa. L'animale va continuamente e progressivamente scemando di peso fino a gr. 690 il dì 21 aprile 1897 in cui muore. Esiste al punto d'inoculazione sotto la pelle un nodulo ben delimitato del volume di una piccola noce, contenente una poltiglia piuttosto densa, biancastra. I tessuti circostanti sono lievemente edematosi: i gangli linfatici prossimi sono ingrossati. Nulla di particolare nei visceri. Nel contenuto dell'ascesso copiosissimi bacilli tubercolari; nessun'altra forma batterica.

Esame istologico. — Normali l'epidermide ed il derma: infiltrazione parvicellulare diffusa ed a focolai tra le fibre del pellicciaio: le piccole cellule in parte sono disgregate, frammentate, degenerate. Tessuto sottocutaneo riccamente infiltrato: qui i focolai di infiltrazione con cellule necrosate, degenerate, sono in maggior numero che nel pellicciaio. Dal tessuto sottocutaneo si passa quasi insensibilmente ad una zona formata da una sostanza in cui non si riconosce affatto struttura cellulare, colorantesi uniformemente e pallidamente: essa è all'intorno delimitata da un tessuto connettivale a fascicoli sottili e rari, ricchissimi di cellule, delle quali la massima parte ha l'aspetto di linfociti, alcune poche quello dei fibroblasti. In nessun punto dei preparati esistono cellule giganti o tubercoli. Cogli adatti metodi si mettono in evidenza abbastanza numerosi bacilli tubercolari tra le fibre del pellicciaio, ed assai più abbondanti là dove esistono focolai di infiltrazione parvicellulare: numerosissimi nei focolai in via di necrosi. Nel tessuto sottocutaneo si trovano pure bacilli irregolarmente disposti: moltissimi ve ne sono nella sostanza necrotica, dove formano in alcuni punti degli ammassi cospicui. Nel lasso connettivo involgente se ne trova un certo numero, sparsi irregolarmente, non ammucchiati: nessuno nella pelle.

B., del peso di gr. 1155.

1 aprile 1897. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

Altre applicazioni del revulsivo si fanno dopo 2 ed 8 giorni dalla iniezione. Si sviluppa a poco a poco un nodulo piuttosto consistente che in 10 giorni ha la grossezza di una mandorla. Il peso dell'animale va progressivamente scemando fino a gr. 680 il dì 12 aprile 1897, in cui muore. Nel tessuto sottocutaneo si osserva un nodulo della grandezza di un grosso fagiuolo, di consistenza pastosa, costituito da una poltiglia biancastra assai densa.

L'animale è profondamente dimagrato. Le ghiandole linfatiche pros-

sime al nodulo sono lievemente tumefatte. Nulla di notevole nei visceri. Nel contenuto del nodulo moltissimi bacilli tubercolari: nessun'altra forma batterica.

Esame istologico. — Epidermide qua e là caduta.

Negli strati più superficiali del derma esiste una infiltrazione parvicellulare assai marcata la quale forma verso la parte più profonda, tra il derma ed il pellicciaio, uno strato continuo in gran parte necrotico. Il muscolo pellicciaio è ricchissimamente infiltrato. I vasi della pelle e del muscolo, come pure quelli del tessuto sottocutaneo, sono fortissimamente iperemici: una certa quantità di sangue stravasato esiste all'intorno dei vasi, e si infiltra anche tra le fibre muscolari ed i fascetti connettivali. La infiltrazione parvicellulare è nel tessuto sottocutaneo abbondantissima. Sotto ad esso si trova una sostanza dall'aspetto necrotico, in tutto simile a quella osservata nel coniglio A: tutto intorno essa è limitata da fascetti delicatissimi di connettivo ricchi di linfociti e di fibroblasti: al di là di questo strato limitante continua sempre una ricca infiltrazione dei tessuti. Bacilli tubercolari si trovano in gran copia nella zona di sostanza dall'aspetto necrotico, dove sono in parte sparsi irregolarmente, in parte raccolti in considerevoli ammassi: un certo numero di essi si nota nello strato limitante, e tra le fibre del muscolo pellicciaio: non se ne vede alcuno nel derma. In nessun punto presenza di tubercoli o di cellule giganti.

C., del peso di gr. 895.

1 aprile 1897. — Inoculazione. Cauterizzazioni col Paquelin nel modo già descritto.

Si ripetono le cauterizzazioni a distanza di 9 e 15 giorni dalla prima. Al punto di iniezione frattanto va formandosi un nodulo, prima duro, poi di consistenza pastosa che dopo 15 giorni dalla inoculazione è grande quanto una nocciuola. Il peso dell'animale va scemando progressivamente fino ad essere di gr. 590 il dì 17 aprile 1897 in cui muore. Esistono le escare recenti dell'ultima cauterizzazione. Al di sotto della pelle si trova un nodulo del volume di una grossa mandorla, abbastanza bene delimitato, che non si approfonda affatto negli strati sottostanti. Esso è costituito da una poltiglia color crema piuttosto consistente. Le ghiandole linfatiche prossime sono tumefatte, midollari. L'animale è moltissimo dimagrato. Nulla di particolare si nota nei visceri. All'esame microscopico del contenuto dell'ascesso si vedono numerosissimi bacilli tubercolari: nessun'altra forma batterica.

Esame istologico. — L'epidermide, sana in alcuni punti, è in altri (là dove cadde la cauterizzazione) irriconoscibile: essa è sostituita da uno straterello di aspetto necrotico, pallidissimamente ed uniformemente colorantesi coi colori nucleari, e sotto a questo uno strato un poco più alto costituito in gran parte da cellule piccole, con nuclei irregolarmente co-

lorantisi e frammentati, frammiste a zolle che si colorano più debolmente. Qua e là sono ancora restate le parti più profonde dei follicoli piliferi, ma le cellule che li costituiscono sono torbide, rigonfie, alcune disfatte, e tra queste si trovano numerosi focolai di infiltrazione parvicellulare. Il derma sembra ovunque ispessito, come edematoso: il suo ispessimento è maggiore corrispondentemente ai punti dove esiste la massima alterazione dell'epidermide: i suoi fasci connettivali sono dissociati, allontanati l'uno dall'altro. Tra essi si trovano anche in discreta copia piccole cellule infiltrate che in alcuni punti sono raccolte in piccoli focolai. Abbondante infiltrazione tra le fibre del pellicciaio. I vasi sono iperemici: qua e là si trova qualche globulo rosso stravasato. Il tessuto sottocutaneo è riccamente infiltrato di cellule, e questo essudato è in gran parte necrotico: da esso si passa ad una zona di sostanza del tutto necrotica, perfettamente identica a quella già descritta nei casi A e B: questa zona è limitata all'intorno da fasci di delicato connettivo ricchi di cellule. Bacilli tubercolari numerosissimi nella sostanza necrotica, rari tra le fibre del pellicciaio, mancano nel derma. In nessun punto si vedono tubercoli o cellule giganti.

D., del peso di gr. 1140.

1 aprile 1897. - Inoculazione. Si praticano cauterizzazioni al solito modo a distanza di 2, 9, 15, 20 giorni dalla iniezione. Frattanto si forma un nodulo dapprima duro, poi più molle, che raggiunge in 20 giorni il volume di una piccola noce, e si apre quindi all'esterno per la caduta di un'escara prodotta dalla termo-cauterizzazione lasciando uscire una poltiglia biancastra piuttosto densa, nella quale coll'esame microscopico si vedono numerosissimi bacilli tubercolari e nessun'altra forma batterica. L'animale va scemando progressivamente di peso tanto da arrivare dopo 26 giorni dalla iniezione a gr. 830.

A differenza di quanto avvenne nella serie I in cui la iniezione sottocutanea di bacilli tubercolari determinò solo alterazioni locali senza dare luogo a tubercolosi generalizzate nello spazio di tempo che durò l'osservazione, qui la morte si è avuta in 3 su 4 conigli inoculati. Questo è avvenuto certamente per la maggiore quantità di bacilli nel materiale inoculato e per la maggiore tossicità di esso. E che la morte sia sopravvenuta principalmente per intossicazione ce lo dice la rapida e notevole diminuzione di peso degli animali subito dopo la iniezione, ed il non constatare alla necroscopia lesioni viscerali specifiche, ma soltanto fatti locali ed un poco di

tumefazione delle ghiandole linfatiche prossime al punto d'inoculazione. Certo non è questa una esperienza da cui sia lecito trarre alcuna conclusione intorno all'effetto dei revulsivi adoprati sul decorso dell'infezione tubercolare; poichè evidentemente più che di una infezione, si è trattato qui di una intossicazione. Però ad ogni modo questo possiamo osservare, che la revulsione non ha avuto affatto influenza sul modo di decorrere dell'alterazione locale, cioè dell'ascesso tubercolare: non ne ha modificato il processo di accrescimento, nè favoritone il riassorbimento: e non ha impedito la penetrazione dei batteri nelle vie linfatiche, onde in tutti gli animali egualmente si ebbe la tumefazione delle ghiandole. Ed ancora se noi teniamo conto che la morte si ebbe nel coniglio B, trattato col collodione cantaridinato, 5 giorni prima che nel C cauterizzato, e 9 giorni prima che in A il quale fu lasciato a sè, e questo senza concomitanza di lesione alcuna che potesse spiegare la morte precoce, possiamo sospettare che in qualche modo la applicazione del revulsivo abbia contribuito a questo esito speciale. Noi crediamo che una intossicazione per cantaridina negli animali così trattati (certamente molto leggera, poichè esaminammo con cura sempre i reni e non vi trovammo mai le alterazioni proprie della cantaridina) debba esistere, e questa, aggiungendosi a quella determinata dalle tossine batteriche, può benissimo anticipare la morte degli animali.

Il coniglio D è sopravvissuto: esso dimostrava già sino dai primi giorni una maggiore resistenza, come è rilevabile dalla diminuzione di peso meno accentuata in lui che negli altri. Di più, circa 20 giorni dopo la iniezione il nodulo si è aperto liberamente all'esterno, e così l'animale si è liberato di gran parte di quei numerosissimi corpi batterici che diffondevano in circolo i materiali tossici.

L'esame istologico non ci mostra notevoli differenze nei diversi animali, salvo le lesioni degli strati superficiali dovute da una parte all'azione del collodione, dall'altra alla cauterizzazione. Del resto, la stessa produzione di essudato necrotico, la stessa ricchezza di questo in bacilli, la stessa formazione di una specie di capsula involgente la sostanza necrotica, la

stessa mancanza in tutti gli animali di tubercoli e di cellule giganti.

***

III. *Cinque conigli* — Ad ognuno di essi si inocula sotto la pelle del fianco 1 cc. di una emulsione preparata, stemperando in 10 cc. di brodo un tubo di coltura su agar glicerinato di bacillo tubercolare dell'età di 25 giorni. A. serve di confronto: in B e C si pratica la revulsione a mezzo del collodione cantaridinato: in D ed E a mezzo delle termo-cauterizzazioni col Paquelin nel solito modo.

A., del peso di 1950 gr.

11 agosto 1897. — Inoculazione. Si sviluppa a poco a poco un nodulo dapprima duro, poi di consistenza più molle, che raggiunge in 20 giorni il volume di una grossa noce, e così si mantiene. Il peso dell'animale non subisce notevoli variazioni.

B., del peso di 1870 gr.

11 agosto 1897. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

Altre applicazioni si fanno dopo 2 e 9 giorni dalle iniezioni: frattanto si è sviluppato un nodulo che in 20 giorni ha raggiunto la grossezza di una noce ed è molle: un'altra applicazione di collodio si fa al 25° giorno dalla iniezione: ma l'ascesso conserva il suo volume e la sua consistenza. Il peso dell'animale si è mantenuto costante.

C., del peso di 2180 gr.

11 agosto 1897. — Inoculazione. Si fanno due applicazioni di collodio cantaridinato a distanza di 2 e 9 giorni dalla iniezione: si lascia quindi che il nodulo che si è formato raggiunga il volume di una noce, il che avviene al 25° giorno dalla inoculazione: si fa allora una nuova applicazione di collodio: il nodulo si mantiene nella sua grossezza e consistenza. Non notevoli mutamenti nel peso dell'animale.

D., del peso di 2030 gr.

11 agosto 1897. — Inoculazione. Cauterizzazioni col Paquelin. Seconda cauterizzazione dopo 9 giorni. Al luogo di iniezione si forma un nodulo dapprima duro, che poi man mano che cresce diviene di consistenza pastosa, molle. Al 25° giorno dalla iniezione è grande quanto una noce: si praticano allora per la terza volta le cauterizzazioni. Il nodulo non subisce nei giorni successivi alcuna variazione. Il peso dell'animale per tutto il tempo dell'osservazione si è mantenuto costante.

E., del peso di 1890 gr.

11 agosto 1897. — Inoculazione. Si praticano cauterizzazioni dopo 2 e 9 giorni. Si sviluppa al luogo di iniezione un nodulo che in 25 giorni diventa del volume di una grossa noce, di consistenza pastosa, molle. Si praticano allora (al 25° giorno) per la terza volta, le cauterizzazioni. Nei giorni successivi il nodulo non subisce alcuna apprezzabile variazione. Il peso dell'animale si è sempre mantenuto costante.

Ho voluto a bella posta adoprare in questa serie una quantità assai piccola di materiale batterico per le iniezioni, affine di non avere, come nella serie II, dei fatti di intossicazione che potessero uccidere in breve tempo gli animali, ma solo dei fatti locali, su cui poter ricercare la influenza dei revulsivi. Ora, questi, tanto sotto forma di spennellature con collodione cantaridinato, quanto sotto quella di estese e ripetute cauterizzazioni col termocauterio, non sembrano avere per nulla modificato lo svilupparsi al punto di iniezione di un ascesso di natura specifica, che in 25 giorni raggiunse in tutti gli animali all'incirca la medesima grossezza, avendo una consistenza molle, semi-fluttuante. Lasciai per qualche tempo, un paio di settimane circa, gli animali a sè, affinchè si dileguassero gli effetti delle prime manovre revulsive, e quindi di nuovo ripetei le applicazioni di cantaridina e le termo-cauterizzazioni per vedere se forse quei mezzi che non erano stati per nulla capaci a modificare il processo di formazione dell'ascesso tubercolare, non fossero in grado di modificarne il processo di riassorbimento. Ma neppure questo è avvenuto: gli animali tenuti in osservazione ancora per oltre 40 giorni non hanno dato a divedere alcuna differenza degna di nota nell'ulteriore decorso della loro locale affezione.

Notiamo il fatto che in questa serie il peso degli animali tutti si è mantenuto ad un dipresso costante per l'intiera durata dell'osservazione. Ciò significa che con quasi certezza in questi animali non era venuto fino allora nessun fatto di infezione o di intossicazione generale, ma tutto limitavasi ad una affezione locale, su cui avrebbero avuto agio di mostrare la colorazione modificatrice i mezzi adoprati come revulsivi, se essi fossero veramente in grado di averne.

D. Actinomicotiche.

Cinque conigli. — Il batterio adoprato è stato l'*actinomyces ocraceus*, specie nuova o varietà dell'*a. albus*, che fu scoperto e studiato dal dott. Dessy in un caso di actinomicosi umana, e che, secondo le ricerche di questo A., inoculato sottocute produce nei conigli la formazione di un nodulo a lento sviluppo, che può poi o riassorbirsi o aprirsi all'esterno dando esito ad una poltiglia biancastra, piuttosto densa.

Il materiale d'inoculazione consisteva in una emulsione fatta stemperando in 6 cc. di brodo 3 colture per strisciamento su agar semplice dell'actinomyces, dell'età di 15 giorni. Ogni coniglio riceve sotto la pelle del fianco 1 cc. di questa emulsione. Degli animali così trattati A serve di confronto: in B e C si fanno ripetute applicazioni di collodione alla cantaridina, in D ed E si praticano termo-cauterizzazioni col Paquelin nel solito modo.

A., del peso di gr. 1145.

12 marzo 1897. — Inoculazione. Al luogo di iniezione si sviluppa, a poco a poco aumentando, un nodulo dapprima duro, di poi di consistenza pastosa che un mese circa dopo la iniezione ha raggiunto il volume di una grossa nocciuola. Resta per qualche giorno di questa grandezza, poi comincia a diminuire tanto, che a distanza di 2 mesi dalla inoculazione non resta che un noduletto della grossezza di un cece, duro, mobilissimo. Il peso dell'animale non subisce notevoli variazioni in tutto questo tempo.

B., del peso di gr. 1440.

12 marzo 1897. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

Si fa un'altra applicazione dopo 8 giorni. Al punto di iniezione si sviluppa un noduletto, che è grande quanto una piccola mandorla il giorno 19 marzo 1897, in cui l'animale muore. Pesa allora grammi 1090. Al punto d'inoculazione esiste un noduletto della grossezza di un fagiuolo, bene incapsulato, consistente, e formato di una poltiglia giallastra assai tenace. Coccidiosi epatica piuttosto marcata. Nulla di particolare negli altri visceri. Nel pus del nodulo sottocutaneo all'esame microscopico si vedono forme coccacee e bacillari resistenti al Gram: dalle colture nasce puro l'*act. ocraceus*.

Nessuna forma batterica nel sangue: le colture da esso restano sterili.

C., del peso di gr. 1200.

12 marzo 1897. — Inoculazione.

15 marzo 1897. — Applicazione di collodione cantaridinato.

19 marzo 1897. — Muore. Al punto d'inoculazione noduletto ben delimitato, della grossezza di un fagiuolo circa, formato da una poltiglia giallastra. Coccidiosi epatica intensa. All'esame microscopico: nel contenuto del nodulo le forme coccacee e bacillari dell'*a. ocraceus*: nel sangue nessuna forma batterica. Dalle colture del nodulo: *a. ocraceus* puro: dal sangue, nulla.

D., del peso di gr. 1020.

12 marzo 1897. — Inoculazione. Termo-cauterizzazioni. Queste si ripetono a distanza di 3, 7, 14, 21, 27, 40, 47 giorni dalla iniezione. Frattanto si sviluppa un nodulo che dopo un mese ha raggiunto il volume di una nocciuola, ed è di consistenza pastosa. Resta così di grandezza stazionaria per qualche tempo, poi comincia lentamente a diminuire. Il peso dell'animale non subisce notovoli variazioni nei due mesi circa che dura l'osservazione.

E., del peso di gr. 1360.

12 marzo 1897. — Inoculazione. Si praticano termo-cauterizzazioni a distanza di 3, 7, 14, 21, 27, 40,47 giorni dalla iniezione. Sviluppo di un nodulo che in un mese circa raggiunge la grandezza di una piccola noce, e quindi resta stazionario, accennando solo verso il 50° giorno a diminuire un poco. Il peso dell'animale va lentamente e continuamente decrescendo tanto da essere appena 800 gr. al 55° giorno dalla iniezione.

Non è la morte l'esito comune dei conigli ai quali si sia iniettato sotto la cute il microrganismo di cui qui ci siamo serviti. Quindi ci meraviglierebbe il caso degli animali B e C in cui l'esito fatale sopravvenne appena dopo una settimana dalla inoculazione, se non fosse la constatazione in essi di una coccidiosi epatica di grado rilevante, che li metteva in grado di resistere assai meno degli altri alla iniezione di actinomyces. Non possiamo dunque tener conto di questi animali se non per far notare che, malgrado l'applicazione di collodione alla cantaridina, aveva cominciato in essi a svilupparsi il nodulo actinomicotico precisamente come negli altri animali

egualmente iniettati ma non soggetti al collodione, ed il nodulo al giorno che essi morirono aveva raggiunto lo stesso sviluppo che negli altri, aveva la stessa consistenza e la stessa mobilità.

Non ho praticato in questa esperienza esami istologici, perchè intendevo di seguire gli animali per il tempo più lungo che mi fosse possibile, e perchè d'altra parte il fare tale esame nei due soli animali che erano morti non mi avrebbe rivelato, dal lato delle alterazioni dovute al revulsivo, nulla che già non conoscessi.

Esaminando i tre animali che hanno sopportato l'iniezione, vediamo che nell'andamento del processo svoltosi nel tessuto sottocutaneo non si è manifestata alcuna differenza tra i due nei quali furono praticate a molteplici riprese le cauterizzazioni, e quello che fu lasciato a sè.

Il nodulo in tutti si sviluppò lentamente nello stesso modo, raggiungendo a un dipresso nello stesso tempo la medesima grandezza, mantenendosi poi per qualche tempo di volume stazionario, per cominciare quindi a decrescere lentamente. Si può quindi dire che la lesione locale tanto nel suo processo di sviluppo come in quello di guarigione, non ha risentito influenza alcuna dalla revulsione esercitata sulla pelle.

II. — Infiammazione del peritoneo.

Diplococciche.

I. *Tre cavie.* — Ognuna di esse riceve nella cavità peritoneale 0,5 cc. di sangue di un coniglio morto per setticemia diplococcica 40 ore dopo la introduzione nel tessuto sottocutaneo di un frammento di polmone con pneumonite fibrinosa.

Dei tre animali così trattati A e B sono lasciati a sè: in C pratico, subito dopo la inoculazione, spennellature con collodione cantaridinato sopra un tratto piuttosto esteso della parete addominale anteriore.

A., del peso di 650 gr.

21 febbraio 1897. — Inoculazione. L'animale non sembra risentire alcun danno. Vive, e non scema di peso.

B., del peso di 570 gr.

21 febbraio 1897. — Inoculazione.

24 febbraio 1897. — Muore. Nella cavità peritoneale due cucchiaiate circa di liquido sieroso torbiccio, in cui nuotano scarsi fiocchetti di fibrina, e che all'esame microscopico appare ricchissimo di diplococchi. Le anse intestinali sono unite tra di loro da veli fibrinosi assai tenui: la superficie del fegato pure è qua e là coperta di stracci fibrinosi. Milza grossa. Nel sangue del cuore numerosi diplococchi. Dalle colture fatte coll'essudato peritoneale e col sangue nasce puro ed abbondante il dipl. lanc. caps. Coll'essudato peritoneale si inocula sottocute un coniglio: questo muore dopo 16 ore ed il suo sangue serve per inoculare le cavie della serie II. (Vedi sotto).

Esame istologico, condotto a tutto spessore traverso la parete addominale anteriore.

Epidermide integra: discreta infiltrazione parvicellulare nel derma e tessuto sottocutaneo: vasi iperemici. Infiltrazione piuttosto ragguardevole nei tramezzi connettivali che separano i diversi piani muscolari, e tra le fibre dei singoli piani. Il tessuto sotto-peritoneale è relativamente povero di cellule. Nei preparati colorati col metodo del Weigert si scorgono sulla faccia interna della sierosa scarsi e piccoli fiocchetti di fibrina carichi di diplococchi: diplococchi liberi si riscontrano nello strato sotto-peritoneale, ove sono relativamente scarsi di numero. Invece si notano abbastanza numerosi nei diversi piani muscolari, intorno alle singole fibre, ed in quantità ancora più grande negli strati tra un piano muscolare e l'altro. Nel tessuto sottocutaneo sono straordinariamente numerosi: i vasi linfatici ne sono zeppi, ed essi si accumulano qua e là in ammassi considerevoli; nel derma sono pochi e sparsi. Nello spessore della parete addominale non sembra che abbiano dato luogo in nessun punto a deposizione di fibrina.

C., del peso di gr. 532.

21 febbraio 1897. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

23 febbraio 1897. — Muore. La parete addominale anteriore, dove fu applicato il collodione, sembra ispessita e come edematosa. Il peritoneo è arrossato: nella cavità peritoneale si trova una certa quantità di liquido siero-fibrinoso: stracci fibrinosi si vedono sulla faccia anteriore del fegato e sulle anse intestinali che sono tenute insieme da sottili membranelle di fibrina.

Dietro le anse intestinali si trova un nodulo grande quanto una noc-

ciuola, che, aperto, mostra contenere del pus biancastro, denso. Il fegato presenta numerosi ascessini dalla grandezza di un capo di spillo ad un pisello, contenenti pure del pus: la milza, assai grossa, presenta pure un ascesso simile. Null'altro di particolare nei rimanenti visceri. Nell'essudato peritoneale all'esame microscopico si vedono numerosissimi diplococchi capsulati: nel pus degli ascessi cocchi e bacilli: nel sangue del cuore rari diplococchi. In coltura dall'essudato peritoneale e dal sangue nasce il diplococco puro: dal pus degli ascessini delle forme batteriche che non è qui il caso di descrivere.

Esame istologico, condotto a tutto spessore della parete addominale, corrispondentemente al tratto di applicazione del revulsivo.

Gli strati superficiali della epidermide mancano: in alcuni punti essa manca in totalità, cosicchè il corpo papillare del derma appare allo scoperto. I fasci connettivali del derma sono alquanto allontanati, e tra loro esiste scarsa infiltrazione parvicellulare.

I vasi decorrenti nel tessuto sottocutaneo sono iperemici: intorno ad essi si nota una ricca infiltrazione: questa, un poco minore, ma pur sempre abbondante, si riscontra in tutto il tessuto sottocutaneo. Tra le fibre dei muscoli più superficiali esiste pure l'infiltrazione, però non molto accentuata, ed essa va facendosi sempre minore a misura che ci si allontana dalla pelle per portarsi verso il peritoneo. Gli straterelli connettivali tra l'un piano muscolare e l'altro della parete addominale sono più ricchi di infiltrazione che i muscoli stessi, ma anche in questi va facendosi minore a misura che ci si approfonda, finchè nello strato immediatamente sotto il peritoneo parietale essa è ridotta soltanto ad alcune poche cellule sparse qua e là tra i fasci del lasso tessuto connettivale che ha il suo aspetto normale.

Nei preparati colorati col metodo del Weigert, si vedono in qualche punto nel peritoneo delle lievi deposizioni di filamenti di fibrina, tra i quali sono numerosissimi diplococchi: di questi se ne trova grande copia nello spessore del peritoneo, tra cellula e cellula, e tra i fascetti del connettivo: talora isolati, o in corte catenelle composte di pochi articoli, il più spesso a coppie. Pochi se ne vedono nel tessuto sotto-peritoneale, e sparsi: così pure nei piani muscolari tra fibra e fibra, e negli spazi tra l'uno e l'altro piano: ricompaiono numerosi nel tessuto sottocutaneo, ove si trovano ammassati in considerevole quantità in corrispondenza dei linfatici: se ne vedono pure, ma in piccolo numero, tra i fascetti connettivali, ed anche fra le cellule epiteliali dell'epidermide, nei punti ove questa è conservata.

In questa esperienza di tre cavie inoculate nel peritoneo con sangue di coniglio contenente il diplococco ne vediamo una sopravvivere, le altre due venire a morte per peritonite siero-fibrinosa accompagnata a setticemia diplococcica.

Di queste, una (C) ha subìto l'applicazione del revulsivo, ed è morta alcune ore prima dell'altra. Ma di ciò non possiamo tenere conto poichè in essa c'era la concomitanza di un'altra infezione, come dimostrò la autopsia. Come differenza tra i reperti istologici non troviamo altro che il processo di dermite in C dovuto al collodione cantaridinato, ed una minore quantità in essa di diplococchi nei diversi strati della parete addominale. Dobbiamo però pensare che questa diversità sia in rapporto coll'essere avvenuta la morte più rapidamente in questo animale che nell'altro, onde non si ebbe tempo che per la via dei linfatici, la quale con molta probabilità è quella seguìta dai batterî per portarsi dalla cavità del peritoneo nella parete dell'addome, penetrassero in questa tanti diplococchi quanti nella cavia B che sopravvisse più a lungo.

*
* *

II. *Quattro cavie.* — Ognuna di esse riceve nella cavità peritoneale 1 cc. di sangue di coniglio morto in 16 ore di setticemia diplococcica, in seguito alla iniezione sottocutanea dell'essudato peritoneale della cavia B dell'esperienza I.

Dei quattro animali così trattati A e B sono lasciati a sè: in C e D si fanno applicazioni di collodione cantaridinato sulla parete addominale anteriore.

A., del peso di 670 gr.

25 febbraio 1897. — Inoculazione.

26 febbraio 1897. Muore. Peritonite siero-fibrinosa. Visceri congesti. — Milza grossa. Nell'essudato peritoneale moltissimi diplococchi: molti pure nel sangue: tanto da questo che da quello si sviluppa in coltura il diplococco puro.

(Non si fece l'esame istologico della parete addominale).

B., del peso di 790 gr.

25 febbraio 1897. — Inoculazione.

26 febbraio 1897. — Muore. Peritonite siero-fibrinosa. Nell'utero, gravido, sono tre embrioni ad un grado piuttosto avanzato di sviluppo. I visceri materni sono congesti, la milza è grossa. All'esame microscopico si vedono diplococchi nell'essudato peritoneale, nel sangue della madre, e nel sangue di un feto esaminato. In coltura da tutti e tre questi materiali si sviluppa puro ed abbondante il diplococco.

Esame istologico: condotto su tutto lo spessore della parete addominale anteriore. Normale l'epidermide. Leggera infiltrazione nel derma. Nulla di particolare nei diversi piani muscolari, nè nel tessuto sottoperitoneale, salvo in questo un certo grado di iperemia vasale. Sul peritoneo in qualche limitatissimo punto soltanto sono delle tenui deposizioni di fibrina cariche di diplococchi. Questi si riscontrano abbastanza numerosi sul peritoneo anche là dove la fibrina non esiste, e formano in alcuni luoghi degli accumuli abbastanza considerevoli. Nel tessuto sottoperitoneale sono piuttosto scarsi, e così pure tra le fibre dei piani muscolari più profondi: diventano più numerosi andando verso la pelle, e nel tessuto sottocutaneo sono in quantità considerevolissima. Se ne trovàno alcuni anche tra i fasci connettivali del derma.

C., del peso di 790 gr.

25 febbraio 1897. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

26 febbraio 1897. — Altra applicazione del revulsivo.

27 febbraio 1897. — Muore. Dove è stato applicato il revulsivo la parete addominale è ispessita, edematosa. Leggera iniezione dei vasi del peritoneo: essudato siero-fibrinoso nel cavo peritoneale e sui visceri. Milza grossa. Moltissimi diplococchi si scorgono all'esame microscopico nell'essudato peritoneale: molti diplococchi anche nel sangue.

Esame istologico. — Strati superficiali della epidermide caduti. Lieve infiltrazione del derma: infiltrazione parvicellulare abbondantissima del tessuto sottocutaneo e così pure dei piani muscolari più superficiali, dove in alcuni punti le fibre sono allontanate le une dalle altre e come schiacciate dal grandissimo numero di cellule che le circondano. La infiltrazione continua, sebbene non tanto intensa, anche negli strati muscolari più profondi e si spinge nel tessuto sotto-peritoneale. I vasi sono iperemici. Sopra il peritoneo non si vede fibrina: si notano però su di esso numerosi diplococchi: questi sono in quantità abbastanza grande nel tessuto sotto-peritoneale, in parte liberi, in parte racchiusi nelle cellule infiltrate. Un certo numero se ne riscontra tra le fibre dei diversi piani muscolari e nel tessuto sottocutaneo: alcuni se ne osservano anche nel derma e si accompagnano fino tra le cellule degli strati più profondi dell'epidermide.

D., del peso di 710 gr.

25 febbraio 1897. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

26 febbraio e 27 febbraio 1897. — Altre applicazioni del revulsivo.

28 febbraio 1897. — Muore. Peritonite siero-fibrinosa: però la fibrina è scarsissima. Milza grossa. Moltissimi diplococchi nell'essudato peritoneale: molti nel sangue.

Esame istologico. — Sono caduti gli strati superficiali dell'epidermide: questa in alcuni punti manca in totalità. Esiste lieve infiltrazione del derma: questa è più abbondante assai nel tessuto sottocutaneo. I vasi sono iperemici. Tra le fibre muscolari l'infiltrazione è abbastanza cospicua, ma non come in C. Nello strato sottoperitoneale è piuttosto lieve. Sul peritoneo si riscontra un certo numero di diplococchi: pochissimi se ne vedono nel tessuto sottoperitoneale e negli strati muscolari più profondi. Diventano numerosi negli strati superficiali; nel tessuto sottocutaneo, là dove è maggiore l'infiltrazione parvicellulare, sono in quantità enorme, formandò in alcuni punti dei grossi ammassi. Si trovano pure abbastanza numerosi nel derma, e si spingono fra le cellule epidermiche in quei punti dove queste sono ancora conservate.

Questa serie di esperienze ci mostra come quattro cavie, inoculate nel peritoneo con sangue di coniglio contenente diplococchi, siano tutte soggiaciute in breve tempo a peritonite siero-fibrinosa accompagnata da setticemia diplococcica. Di esse due hanno subito l'applicazione del revulsivo, le altre no. La morte è avvenuta un poco più tardi, 24 ore circà, negli animali che ebbero la revulsione; ma questa differenza di tempo, di per sè assai leggiera, viene a perdere del tutto d'importanza se pensiamo che la cavia A era più piccola delle altre, ed in quella B lo stato di gravidanza costituiva certamente una condizione di più facile vulnerabilità di fronte ad un agente morboso.

Come fatti locali non troviamo altra differenza che il processo di infiammazione negli strati più superficiali della parete addominale dovuto alla azione del collodione cantaridinato, nelle cavie C e D: del resto questo processo non ha influito in nulla, nè sulla determinazione della peritonite da un lato, nè sulla penetrazione dei diplococchi tra gli elementi della parete addominale dall'altro.

III. *Tre cavie.* — Ognuna di esse riceve nella cavità peritoneale $^1/_3$ di cc. dello stesso sangue che servì per l'esperienza II, con aggiuntovi tanto brodo fino ad 1 cc. e tenuto alla temperatura di 20° per 24 ore. Degli animali così inoculati due (A e B) sono lasciati a sè: in C si praticano spennellature con collodione cantaridinato.

A., del peso di 837 gr.

26 febbraio 1897. — Inoculazione.

1 marzo 1897. — Muore. Peritonite fibrinosa assai intensa: il peritoneo tanto parietale che viscerale è coperto da uno strato di fibrina piuttosto spesso. Milza grossa: fegato pallido. Numerosi diplococchi all'esame microscopico nell'essudato peritoneale e nel sangue. In coltura nasce il diplococco puro.

Esame istologico. — Nulla di notevole nella pelle e negli strati muscolari più superficiali: leggera infiltrazione in quelli più profondi, che aumenta man mano che si va verso il peritoneo: il tessuto sottoperitoneale è ricco di focolai di infiltrazione parvicellulare all'intorno dei vasi ed un grande numero di piccole cellule si trovano pure diffusamente. I vasi in tutto lo spessore della parete addominale sono fortemente iperemici. Sul peritoneo sono deposti fiocchetti di fibrina formati di filamenti carichi di diplococchi. Questi sono sul peritoneo numerosi anche dove la fibrina non esiste. In quantità abbastanza grande si trovano nello strato sottoperitoneale e tra le fibre dei piani muscolari più profondi: diventano poi più numerosi nell'interstizio tra i due ultimi strati muscolari, e tra le fibre dello strato medio sono in quantità grandissima, tanto da formare come un anello intorno ad ogni singola fibra: assai numerosi pure nel tessuto sottocutaneo specialmente intorno ai linfatici che ne sono zeppi. Alcuni diplococchi si ritrovano anche tra i fasci connettivali del derma.

B., del peso di gr. 580.

26 febbraio 1897. — Inoculazione.

13 marzo 1897. — Muore. Nel cavo addominale poca quantità di liquido sieroso sporco. Fibrina piuttosto abbondante sulla superficie del fegato, sulla milza e tra le anse intestinali. Milza grossa. Non esiste fibrina sul peritoneo parietale.

Nelle cavità pleuriche d'ambo i lati essudato fibrino-purulento in quantità piuttosto grande: i polmoni atelettasici. Molti diplococchi all'esame microscopico nell'essudato peritoneale ed in quello pleurico: scarsi nel sangue: in coltura nasce puro da tutti e tre questi materiali.

Esame istologico. — Normale la pelle: nulla di particolare nel tessuto sottocutaneo e nei diversi piani muscolari fuorchè una iperemia piuttosto intensa dei vasi. Nel tessuto sottoperitoneale esiste modica infiltrazione parvicellulare. Non si nota deposizione di fibrina sul peritoneo: sopra la faccia interna di questo ed anche nel suo spessore si trova un certo numero di diplococchi. Di questi se ne osserva qualcuno anche nel tessuto sottoperitoneale, ed assai scarsi nei diversi piani muscolari, nel tessuto sottocutaneo e nel derma.

C., del peso di gr. 690.

26 febbraio 1897. — Inoculazione. Applicazione di collodione cantaridinato.

27 febbraio 1897. — La cavia ha partorito nella nottata due feti giunti quasi a completo sviluppo, contenuti sempre nel sacco amniotico. Dalle colture fatte col succo epatico di uno di essi nasce puro il diplococco.

Ripeto l'applicazione del revulsivo.

28 febbraio 1897. — Muore. Peritonite siero-fibrinosa: milza piuttosto grossa. Diplococchi nel sangue e nell'essudato peritoneale: dalle colture il diplococco si sviluppa puro ed abbondante.

Esame istologico. — Epidermide in alcuni punti caduta: conservata in altri. Lieve infiltrazione del derma: un poco più accentuata nel tessuto sottocutaneo, ove si nota pure una grande quantità di sangue stravasato che circonda i lobuletti adiposi. Vasi iperemici. La infiltrazione parvicellulare,appena accennata nei diversi piani muscolari e negli strati di lasso connettivo interposti fra questi, aumenta nel tessuto sottoperitoneale, ove è abbastanza intensa. Sul peritoneo si nota qualche filamento di fibrina carico di diplococchi: di questi un certo numero si trova nello spessore del peritoneo e qualcuno nel tessuto sottoperitoneale. Nei piani muscolari più profondi, tra fibra e fibra se ne scorgono alcuni, assai rari: sono invece numerosi negli strati di lasso connettivo tra un piano muscolare e l'altro, e tra le fibre dei muscoli più superficiali. In quantità considerevolissima si vedono nel tessuto sottocutaneo, ove, frammisti al sangue stravasato, formano in certi punti dei grossi accumuli: i vasi linfatici ne sono pieni. Qualche raro diplococco trovasi pure nel derma.

In questa esperienza, l'unico animale che ha subito la revulsione (C) è morto dopo due giorni dalla iniezione intraperitoneale di diplococco: di quelli lasciati a sè, uno (A) è venuto a soccombere dopo tre giorni, l'altro (B) dopo quindici. In tutti e tre si è avuto, oltre il quadro della peritonite siero-fibrinosa, anche la setticemia diplococcica, come è dimostrato dai risultati dell'esame batteriologico del sangue. E la penetrazione del batterio in circolo deve essere stata nella cavia C, sottoposta alla revulsione, almeno tanto rapida come nelle altre due, dacchè già 24 ore dopo l'iniezione si poteva riscontrare nel corpo di un feto abortivo la presenza del diplococco. Anche notando qui, come già per la cavia B della esperienza II, che forse lo stato di gravidanza abbia contribuito ad affrettare la morte, risulta sempre che pure in questa serie di animali la revulsione non ha per nulla modificato l'andamento dell'infezione sia locale che generale.

L'esame istologico nelle cavie A e C non offre, tranne il

processo di dermite prodotto dal revulsivo in C, notevoli differenze. In B troviamo una assai scarsa quantità di diplococchi nella parete addominale. Questo fatto potrebbe spiegarsi pensando che qui pure i batterî fossero dapprima penetrati per la via linfatica negli strati costituenti la parete dell'addome in notevole quantità, così come si osserva negli altri casi, e poi lì fossero morti e non più dimostrabili, o altrove trasportati: e questo potrebbe essere accaduto, data la lunga sopravvivenza (15 giorni) dell'animale. Ma tenendo conto della pleurite siero-fibrinosa assai intensa, bilaterale, trovata alla necroscopia in questo caso, e che in nessun altro trovai, sono piuttosto inclinato a credere che i batterî, per una ragione a me ignota, abbiano qui preso, per diffondersi dal peritoneo nel resto dell'organismo, la via dei linfatici del diaframma e quindi siano in copia giunti nella cavità pleurica di tutti e due i lati, anzichè quella della parete addominale. Mi sembra che questo spieghi abbastanza bene la pleurite da una parte, e la scarsezza di diplococchi nella parete dell'addome dall'altra.

*
* *

Dopo avere così esposto le cose osservate nelle molteplici nostre esperienze, cerchiamo ora un poco di riassumere i fatti principali, per vedere di poterne trarre una qualche conclusione.

Noi abbiamo adoperato per le esperienze dei microrganismi diversi, e diversamente patogeni: alcuni più atti a dare forme locali, altri più a produrre infezioni od intossicazioni generali. Ora le alterazioni dei nostri animali si sono limitate a processi infettivi locali, ora hanno portato anche ad una infezione generalizzata che si è manifestata sia dopo poco dalla iniezione del batterio, sia dopo un certo tempo per la penetrazione in circolo dei microrganismi provenienti dal focolaio dapprima localizzato. Ebbene, noi abbiamo veduto le cose egualmente procedere in tutti gli animali soggetti alla inoculazione della stessa qualità e quantità di un batterio, sebbene in alcuni di questi animali si sia esercitata una revulsione abbastanza energica, ora con la cantaridina, ora con le termo-cauterizzazioni. Dove si ebbe la for-

mazione di un focolaio suppurativo, esso si sviluppò egualmente in tutti i casi, ed il focolaio raggiunse nello stesso tempo presso a poco il medesimo volume: dove i fatti furono più di natura necrotica, le cose pure egualmente procedettero; dove dalla locale infezione si passò ad una generalizzazione della stessa, ad una setticemia, questa si produsse egualmente negli animali sottoposti alla revulsione ed in quelli che non la subirono.

Le alterazioni prodotte dai nostri revulsivi sugli animali sono limitate agli strati più superficiali, e non si spingono mai più in là del tessuto sottocutaneo. Consistono sempre in un processo di dermite, rilevabile dalla iperemia vasale e spesso anche dalla fuoruscita di sangue dai vasi; dalla presenza di un edema flogistico che dissocia gli elementi cellulari, connettivali e muscolari della pelle; dalla infiltrazione parvicellulare, talvolta abbondantissima, nel derma e negli strati immediatamente sottogiacenti; da processi di natura degenerativa o necrobiotica degli elementi cellulari più superficiali, là dove il revulsivo è immediatamente applicato. Ora, se nel tessuto sottocutaneo od in qualche altro luogo più profondamente situato si ha un processo infiammatorio, ad esempio la formazione di un ascesso per la presenza di batteri piogeni, il campo in cui si determinano le alterazioni proprie del revulsivo, e quello dove il processo infettivo si svolge, rimangono separati per mezzo di una zona di tessuto che in certo modo limita nettamente le due alterazioni; e l'una decorre a fianco, sovrapposta all'altra, senza che si influenzino reciprocamente in modo alcuno. Così noi abbiamo visto, ad esempio, negli animali a cui fu inoculato lo streptococco e lo stafilococco, la dermite prodotta artificialmente dal revulsivo procedere affatto distinta dalla suppurazione provocata negli strati più profondi dalla presenza del batterio piogeno: in quelli trattati col bacillo tubercolare, aversi di sopra le alterazioni date dal revulsivo, e di sotto la formazione dell'essudato quasi totalmente necrotico, circondato dal suo involucro delimitante, dovuta al bacillo tubercolare, senza che i due processi si mescolassero affatto l'uno con l'altro o si modificassero a vicenda. Nelle cavie in cui si produsse la peritonite siero-fibrinosa diplococcica, abbiamo veduto, nei tagli a tutto spessore

della parete addominale, di sopra, fino al tessuto sottocutaneo, le lesioni date dal revulsivo; di sotto, nel peritoneo, nello strato sotto-peritoneale e nei piani muscolari più profondi, quelle prodotte dalla peritonite. Ed era possibile, esaminando i preparati, dire in tutti i casi: fin qui le alterazioni sono prodotte dalla revulsione: di qui in giù la revulsione non ha nulla a vedere, è il processo infettivo che è in causa.

Dobbiamo perciò ritenere che la revulsione, così come noi la abbiamo praticata, non ha avuto nessuna azione benefica sul decorso delle affezioni di natura batterica. Si sarebbero potute eseguire esperienze anche su altri ordini di lesioni, oltre quelle da noi prodotte, ad esempio sui processi viscerali e delle sierose pleurali ed articolari. Ma considerando la nessuna azione che la revulsione ha avuto sul decorso di affezioni batteriche localizzate in organi e tessuti assai prossimi alla pelle, cioè al punto ove il revulsivo era applicato, ci è sembrato inutile il fare ricerche su lesioni che per la loro localizzazione in organi profondi sarebbero state ancora meno in grado di risentire dalla revulsione una qualunque influenza.

Eppure le condizioni sperimentali in cui ci siamo messi erano certamente quelle che sarebbero state più in grado di poter dare un qualche risultato positivo. Difatti noi potevamo precisare il momento in cui si produceva la infezione, ed applicavamo immediatamente il revulsivo, onde la sua azione, se ne aveva, si manifestasse subito, disturbando così fino dal suo inizio il processo infettivo. Di più, trattandosi nelle nostre ricerche di lesioni del tessuto sottocutaneo e del peritoneo, il luogo dove il processo batterico si svolgeva era sempre abbastanza prossimo alla pelle perchè il revulsivo potesse spiegare la pretesa sua azione modificatrice sulla infezione stessa. Malgrado ciò, nessuna modificazione.

Quindi noi possiamo dubitare molto dei risultati, che alcuni vantano tanto buoni, della medicazione revulsiva nell' uomo, quando si pensi che qui le condizioni sono molto meno favorevoli che nei nostri animali.

Nella patologia umana non sappiamo quasi mai con precisione quando un processo infettivo ha avuto principio, né

quale sia stata la porta d'ingresso dei microrganismi: si arriva sempre in un periodo in cui la lesione è già costituita da un pezzo, in cui dall'azione revulsiva altro non sarebbe da attendersi se non un più rapido e completo riassorbimento degli essudati flogistici. E noi abbiamo veduto che questo risultato dalla applicazione dei revulsivi non si ottiene di certo.

Di più la infezione nell'uomo si svolge quasi sempre ad una distanza dalla superfice della pelle molto maggiore di quanto avveniva nei nostri animali. I vescicanti si applicano per la cura delle pleuriti, in cui fra pelle e cavità pleurale ci sono muscoli ed ossa: si applicano contro la polmonite in cui, oltre la stessa distanza, si aggiunge l'intermezzo di una cavità sierosa: si applicano come metodo curativo (che alcuni, come il Wood, chiamano eroico) delle peritoniti acute; e nell'uomo la distanza tra pelle e peritoneo è certamente molto maggiore di quanto non sia nelle cavie, dove pure la revulsione ci si dimostrò del tutto incapace di modificare l'andamento della peritonite diplococcica; ed in tante altre affezioni che è qui inutile enumerare.

E le cauterizzazioni hanno pure un largo uso nella pratica medica, e le si adoperano nella speranza di modificare lesioni situate in visceri profondamente nascosti: basterà che io citi le affezioni del midollo spinale, sia acute, sia croniche, nelle quali da tanti è raccomandato il termo-cauterio come un mezzo di grande efficacia. E si pensi che si tratta di agire sopra un organo separato dalla superfice cutanea per mezzo di tutto lo spessore della pelle e del tessuto sottocutaneo, di notevoli masse muscolari, di un guscio osseo, di uno spazio morto, e di due membrane, l'una fibrosa, sierosa l'altra. Quali risultati possano aspettarsi in malattie di tali organi da interventi come quelli che noi abbiamo studiato e che ci si sono dimostrati assolutamente incapaci, anche se applicati subito al prodursi della infezione, ed a poca distanza dalla sede ove questa si svolgeva, in verità non ce li immaginiamo neppure.

Inoltre noi non possiamo ammettere che la revulsione, in qualunque modo sia fatta, riesca del tutto indifferente, nel senso di non nuocere all'organismo sul quale si applica. Prendiamo, ad esempio, la cantaridina. È ammissibile che una certa

quantità di essa debba penetrare nell' organismo, ed andare così ad intossicarlo: e, per quanto leggero questo avvelenamento si voglia ammettere, l'organismo avvelenato sarà meno in grado di combattere e di resistere alla infezione che in esso si svolge. Ma c'è di più. Noi, quando adoperiamo come revulsivo dei preparati a base di cantaride, dobbiamo sempre temere la possibilità della insorgenza di una nefrite. Non tanto rari sono i casi in cui nell'uomo si è avuta a lamentare questa complicanza sorta in seguito a applicazione di vescicatorî cantaridati. E la nefrite non è solamente da temersi per sè, in quanto potrebbe non sempre limitarsi a lievi alterazioni riparabili in un tempo più o meno lungo, ma in quanto costituisce una gravissima complicanza di fronte alla infezione Poichè da una parte essa determina una insufficienza renale onde l'organo non è più capace di eliminare i materiali di elaborazione organica dotati di proprietà tossiche, e dall' altra impedisce o almeno diminuisce la eliminazione per l'emuntorio renale dei batterî e delle tossine batteriche.

Questi pericoli non esistono nel caso che si adopri, come revulsivo, la termo-cauterizzazione. Ma anche questa può non riuscire del tutto innocua. Il riassorbimento di parte dei materiali risultanti dalla necrosi prodotta negli strati superficiali della pelle per mezzo del cauterio può dare un certo grado di intossicazione. Che anzi alcuni sostengono che nelle vaste ustioni è questo non ultimo dei fattori che concorrono a portare all' esito fatale. Ed abbiamo poi d' altro lato i pericoli che possono insorgere in seguito alla caduta dell' escara necrotica, principalmente le infezioni secondarie che dal punto ove l'escara si è distaccata potrebbero avere la loro porta d' ingresso. Pericolo questo del resto che abbiamo veduto doversi tenere in conto anche adoprando revulsivi a base di cantaridina.

Da tutto questo noi ci crediamo autorizzati a venire alle seguenti conclusioni:

1° La revulsione cutanea esercitata a mezzo della cantaridina e delle termo-cauterizzazioni non è capace di modificare in senso favorevole all'organismo animale l' andamento di pro-

cessi flogistici di natura batterica svolgentisi nei tessuti sottogiacenti alla pelle.

2° Essa non impedisce il generalizzarsi della infezione, e non aumenta di fronte a questa la resistenza degli organismi.

3° Istologicamente studiate, le lesioni prodotte nella pelle dal revulsivo, e quelle provocate nei tessuti sottogiacenti dalla presenza di batterî patogeni, decorrono le une accanto alle altre senza influenzarsi reciprocamente.

4° La revulsione esercitata coi mezzi anzi detti, oltre che in ogni caso inutile, può in taluni riuscire dannosa, ed è quindi assolutamente da respingersi.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile*.

(Laboratorio di Materia Medica e Farmacologia sperimentale di Firenze).
(Prof. G. Bufalini).

RICERCHE FARMACOLOGICHE SULLA LICOCTONINA

DEL

DOTT. GUIDO MARCHETTI (1)

L'*Aconitum Lycoctonum Linn.* (*A. toxicarium Salisb*, *A. altissimum Mill.*, *A. vulparia-neapolitanum Tenor*, *ecc.*) è una ranunculacea assai nota per le sue proprietà venefiche, ma poco conosciuta dal lato farmacologico. Pallas, molto tempo addietro, ha eseguito le prime ricerche chimiche su questa pianta, ma di recente furono riprese da Hübschmann e da altri; difatti Hübschmann ne estrasse dalle radici e dai rizomi due alcaloidi distinti, l'*acolictina*, solubile nell'acqua e insolubile nell'etere e la *licoctonina* solubile nell'etere e poco solubile nell'acqua. Senonchè mentre sembrò in principio l'acolictina essere identica alla napellina dell'*A. napellus*, Wright e Luff considerarono invece gli alcaloidi trovati da Hübschmann come analoghi all'aconina e alla pseudoaconina, e Dragendorff e Spohn come prodotti di decomposizione di due altri alcaloidi del licoctono da essi di recente separati e designati col nome di *licaconitina* e *mioctonina*.

La preparazione di questi due ultimi alcaloidi secondo Dragendorff e Spohn si eseguisce facendo digerire due chilogr. di radice di *A. lycoctonum* ben polverizzata con 10 gr. di acido tartarico in 8 chilogr. di alcool a 90° per sei giorni a 30° C. Evaporato e filtrato il liquido si tratta con acqua per sepa-

(1) Estratto dalla Tesi di Laurea (luglio 1897).

rare la resina, si fa prima l'estrazione con etere e poi altra estrazione con cloroformio, quindi dall'estratto etereo si ottiene un alcaloide amorfo, la licaconitina, mentre dall'estratto cloroformico si ottiene la mioctonina sotto forma di polvere bianca. La licaconitina ha probabilmente la formula $C_{27}H_{34}N_2O_6 + 2 H^2O$ e si presenta sotto forma di una massa resinosa di un giallo pallido che dà una polvere bianca; è solubile facilmente nella benzina, cloroformio, alcool e solfuro di carbonio, poco nell'etere, pochissimo nell'etere di petrolio; perde l'acqua a 110° e fonde a 111°,7 C–114°,8 C: forma sali amorfi anche coi cloruri di oro e platino. La reazione della soluzione acquosa è alcalina. In soluzione al 10 % nell'alcool assoluto la licaconitina presenta un potere rotatorio di $[\alpha]d = + 31°,5$, ma la soluzione al 10 % del nitrato dà invece $[\alpha]d = + 19°,40$. Coll'acido solforico la licaconitina si colora in rosso bruno, mentre coll'acido solfoselenico (8 cc. di acqua, 6 cc. di acido solforico puro e 0 gr. 3 di seleniato sodico) colorasi in rosa o rosso violetto pallido (reazione questa che non è data dall'aconitina, dalla nepalina nè dalla licoctonina commerciale) e coll'acido fosforico sciropposo dà una soluzione violetta.

La licaconitina scaldata con acqua a 100° si scompone in acido licoctonico, licaconina ($C_{32} H_{46} N_4 O_8$?) probabilmente identica all'acolictina di Hübschmann, in un altro acido (β resorcilico?), in un alcaloide amorfo ed una resina. Similmente si scompone coll'acido cloridrico al 2 %. Scaldata con soda caustica al 4 % in tubi aperti o in tubi chiusi lascia depositare un composto $(C_{27} H_{47} N_2 O_7)^2 + 3 H^2 O$ cristallizzato in aghi o lamine fusibile a 90°,3 — 91°,8.

Questo composto che ha le proprietà della licoctonina di Hübschmann si scioglie in 247 parti di acqua, in 3 parti di cloroformio, 58,4 parti di etere, 64,5 di benzina e 4 parti di alcool assoluto. Ha reazione alcalina, potere rotatorio $[\alpha]d = 46°,4$.

La soluzione madre contiene inoltre un secondo alcaloide solubile nel cloroformio che rassomiglia all'acolictina, dell'acido licoctonico ($C_{17} H_{18} N_2 O_7$), il quale è cristallizzato e solubile in acqua, alcool, etere, cloroformio e benzolo, e infine una quarta sostanza che non è stata isolata.

La base di Hübschmann (licoctonina) era dunque un prodotto di scomposizione della base preesistente nella pianta, cioè la licaconitina.

La mioctonina ha la composizione $C_{27}H_{30}N_2O_8 + 5H^2O$, è amorfa bianca o rossastra pallido solubile nella benzina, alcool assoluto, cloroformio, solfuro di carbonio, assai poco solubile nell'etere e nell'acqua. Il suo sapore è amaro, ma non acre, fonde a 143°,5 — 144° ed allo stato di nitrato ha il potere rotatorio $[\alpha]d = 29°,4$.

Scaldata colla soluzione sodica al 4 %, si decompone come la licaconitina in licoctonina, acido licoctonico e in un alcaloide rassomigliante all'acolictina e in una quarta sostanza di cui è sconosciuta la natura.

Tali sono al giorno d'oggi le cognizioni che si hanno sui principii contenuti in questa pianta.

La licaconitina e la mioctonina furono fatte oggetto di uno studio farmacologico da Jacobowsky e Salmonowitz. Essi trovarono che ambedue gli alcaloidi avevano un'azione curarica, eccitavano il vago, abbassavano la pressione sanguigna per paralisi del centro vasomotorio o dei nervi vasali. Mentre però la mioctonina era doppiamente tossica della licaconitina, la tossicità di ambedue per via gastrica, diminuiva per l'accumularsi degli alcaloidi in gran quantità nel fegato, quantunque ne fosse dimostrata la presenza anche in altri organi (eccetto il cervello e il midollo), nella bile e nelle orine.

Già fino dal 1875 Isaac Ott aveva studiato l'azione fisiologica della licoctonina preparata da Tromsdorff (Erfurt) ed era venuto alle seguenti conclusioni:

1° La licoctonina è più debolmente tossica dell'aconitina.

2° Uccide principalmente per l'azione sull'apparato respiratorio.

3° Paralizza i nervi motori.

4° Non attacca i nervi di senso, nè la midolla, nè i muscoli striati.

5° Abbassa la pressione sanguigna e il polso senza aver prodotto prima un innalzamento come quello che ha luogo coll'atropina.

6° Questo abbassamento della tensione vasale e del polso è dovuto ad un' azione su i nervi intracardiaci.

7° I pneumogastrici non sono paralizzati che da dosi considerevoli.

8° L'aritmia (delirium cordis), prodotta da piccole dosi, è dovuta a un perturbamento dell' innervazione del cuore.

Della licoctonina (Trommsdorff) hanno poi studiato il Torsellini l'azione cardiaca nel 1883 nel Laboratorio del Professor Bufalini a Siena e il Bufalini stesso l'azione muscolare nel 1884.

Il primo, esperimentando sul cuore di rana in sito (cardiografo Ranvier) trovò un leggiero aumento nel numero delle pulsazioni cardiache, aumento che a poco a poco spariva fino a ritornare esse al numero normale ed era accompagnato da un aumento, pure leggiero e transitorio, dell'altezza del tracciato. Anche esperimentando coll' apparecchio del Roy, sul cuore di rospo, verificò i medesimi fatti, ma per di più osservò che la licoctonina non solo era capace di regolarizzare la funzione di un cuore avvelenato con acido aconitico, ma anche di vincere l'arresto diastolico dalla detta sostanza provocato, mentre il liquido nutritivo normale non era sufficiente a tale scopo.

Bufalini, studiando il decorso dell' eccitabilità muscolare negli avvelenamenti acuti sulla rana esculenta, trovò « che la licoctonina, anche alla dose minima di venti milligrammi, diminuisce in modo considerevole l' eccitabilità dei nervi motori ed esercita probabilmente una lievissima azione depressiva sulla contrattilità muscolare, del resto a dose maggiore (quaranta milligrammi) gli effetti si manifestano colla paralisi completa della motricità nervosa. »

In questi ultimi tempi Rosendahl ha isolato dall' A. licoctonum della Scozia settentrionale tre alcaloidi. Uno di questi, denominato settentrionalina, per il luogo ove cresce la pianta, si presenta sotto l'aspetto di una polvere bianca o leggermente giallastra di sapore amaro. Fonde a 128°,9 C, è destrogira, si scioglie in 2.1 parti di etere e in 58 parti di acqua. Somministrata per la via della bocca non produce effetti tossici generali; per via ipodermica o endovenosa, produce scialorrea, nau-

sea, paralizza i nervi sensitivi e motori. Adoperando una quantità minima di settentrionalina, che è richiesta per la curarizzazione, la pressione sanguigna si abbassa immediatamente, laddove l'attività cardiaca persiste abbastanza energica. Il tetano, prodotto con la stricnina, si dissipa immediatamente così nelle rane come negli animali a sangue caldo con le iniezioni di questo alcaloide. Le altre due sostanze, che l'A. ha denominato lapoaconitina e cinoctonina, sono veleni convulsivanti nel vero senso della parola.

Attesa l'importanza dell'argomento e lo stato ancora incompleto delle nostre conoscenze in proposito, l'anno scorso il Prof. Bufalini mi propose di continuare le ricerche adoprando la licoctonina di Trommsdorff. Questa si presenta sotto l'aspetto di una polvere giallo-chiara, assai poco solubile nell'acqua, facilmente invece allorchè sia acidulata con qualche goccia di acido acetico o tartarico. La soluzione neutralizzata non intorbida e si mantiene bene per assai lungo tempo.

Riassumo i resultati ottenuti dallo studio dell'azione generale.

Nella *Rana esculenta* la dose minima letale è rappresentata da circa 78 centigrammi per kgr.: la morte però avviene dopo qualche ora. Con quantità doppia la rana soccombe rapidamente (in 20'). Dosi inferiori producono fenomeni di avvelenamento più o meno leggieri e duraturi a seconda della quantità di alcaloide usata, ma la rana si rimette completamente.

L'avvelenamento si manifesta con una paresi o paralisi generale, più spiccata nel treno posteriore, con diminuzione o abolizione dei riflessi e dell'eccitabilità neuromuscolare. Nel rospo (Bufo vulgaris) si osserva maggiore resistenza all'azione del veleno, ma identica rimane la natura dei fenomeni.

Riporto qualche esperienza:

10 Aprile 1896. — Rana esculenta di gr. 27.

Ore 10. — Iniezione nel sacco linfatico di 4 centigr. di licoctonina Trommsdorff.

Ore 10, 5'. — Movimenti volontari e riflessi scomparsi, i muscoli rilasciati. Alla corrente faradica (distanza dei rocchetti 120 millim.) lo sciatico è appena eccitabile, il gastrocnemio si contrae debolmente.

Ore 10, 15′. — Sciatico e muscolo ineccitabili, cuore con tendenza all'arresto diastolico.

Ore 10, 20′. — Arresto diastolico del cuore.

15 Aprile 1896. — Rana esculenta di gr. 27.

Ore 9. — Iniezione nel sacco linfatico di 2 centigr. di Licoctonina Trommsdorff.

Ore 9, 5′. — Comincia la paralisi nel treno posteriore, diminuzione dei riflessi.

Ore 9, 10′. — Paralisi completa dei movimenti volontari e riflessi.

Ore 9, 20′. — L'eccitabilità dello sciatico e del muscolo è ancora diminuita.

Ore 2. — Arresto diastolico del cuore.

20 Marzo 1896. — Rana esculenta di gr. 27.

Ore 8. — Iniezione nel sacco linfatico dorsale di 1 centigr. di licoctonina Trommsdorff.

Ore 8, 10′. — La rana è in stato di paresi nel treno posteriore. Diminuzione dell'eccitabilità riflessa. Lo sciatico è abbastanza eccitabile, il muscolo conserva un discreto grado di contrattilità.

Ore 8, 20′. — I fenomeni sono leggermente accentuati.

Ore 8, 30′. » » » » diminuiti.

Ore 9. — » » » ancora diminuiti.

Ore 9, 30′. — La rana si è completamente rimessa.

Nelle esperienze eseguite sugli ematermi, i risultati pressochè negativi ottenuti, pure adoperando dosi estremamente forti della sostanza (su un topolino di 70 gr. 12 centigr. di licoctonina) mi indussero ad abbandonare un simile ordine di ricerche, causa l'elevato costo del prodotto.

Da tutte le esperienze eseguite risulta che la licoctonina determina fenomeni di paralisi generale. La mancanza dei movimenti volontari e riflessi che abbiamo constatato nell'animale può evidentemente avere una sede centrale o periferica. Per risolvere cosifatta questione ho eseguito un'esperienza, legando l'arteria iliaca di un lato. In una rana o in un rospo, così preparati, iniettando una dose di veleno sufficiente a produrre la paralisi e quindi stimolando con diversi mezzi la cute dell'arto in cui è libero l'afflusso del sangue, si vede mancare la contrazione nei muscoli della gamba risparmiata all'azione del veleno. Questo risultato ci autorizzerebbe ad ammettere che la paralisi fosse di natura centrale, se non rimanesse il dubbio che la porzione afferente dell'arco diastaltico, cioè i nervi

di senso dell' arto avvelenato, fosse essa in condizioni tali da non potere trasmettere la stimolazione periferica. Restava da vedere se la licoctonina fosse capace di deprimere l' eccitabilità dei nervi sensitivi. A tale scopo io ho istillato nel sacco congiuntivale del coniglio qualche goccia di una soluzione di licoctonina ed ho osservato che il riflesso congiuntivale non era per nulla modificato. Questo risultato negativo può indurre a ritenere che l'azione della licoctonina debba essere se non in tutto, almeno in gran parte di natura centrale. Il bulbo tuttavia sembra venire colpito più tardivamente, ciò che si arguisce dallo scomparire solo nelle ultime fasi dell' avvelenamento i movimenti del respiro e del cuore.

Io ho quindi cercato di stabilire i particolari relativi al meccanismo e alla localizzazione dell' azione.

Passo avanti tutto a riferire i risultati delle ricerche grafiche eseguite sul sistema neuro muscolare negli animali a sangue freddo. Mi son servito del miografo doppio di Marey, prendendo la curva di contrazione intera oppure solo l'altezza massima e relativa del raccorciamento muscolare. (Metodo di iscrizione di Fick).

La corrente mi veniva fornita da sei elementi Leclanché in comunicazione colla slitta di Du Bois-Reymond e le esperienze venivano praticate entro un periodo di tempo breve. Si ottenevano le interruzioni mediante un interruttore applicato al cilindro (sistema Bufalini), per la descrizione del quale rimando agli Atti dell'Accademia Medico Fisica Fiorentina (Seduta del 24 febbraio 1896). Credo utile avvertire che muscolo e nervo venivano accuratamente mantenuti in stato di umidità mediante la soluzione fisiologica di cloruro sodico.

Le esperienze sono state eseguite nel seguente modo:

1° eccitando comparativamente e contemporaneamente lo sciatico da un lato e il muscolo gastrocnemio dall'altro;

2° eccitando nella stessa guisa lo sciatico tanto nell'arto avvelenato, quanto in quello preservato dall' avvelenamento;

3° finalmente stimolando il gastrocnemio tanto del membro preservato dall' avvelenamento come quello del corrispondente avvelenato.

Trascrivo le altezze ridotte in espressione numerica, delle curve di contrazione ottenute in qualche esperienza.

Rana esculenta di gr. 40. Si prepara il nervo sciatico sinistro, il muscolo gastrocnemio corrispondente viene unito a una leva del Miografo Marey, si prepara il gastrocnemio destro e si unisce all'altra leva dell'apparecchio.

SPECCHIETTO n. 1.

Tempo	Quantità del veleno	Altezza della curva di contrazione in millimetri		Distanza dei rocchetti in centimetri
		Eccitazione diretta	Eccitazione indiretta	
ore 10	—	20-21-21	31-31-32	
10,5′	$^1/_2$ centig.			
10,15′	—	17-17-16	31-30-30	$0^m,12$
10,45′	—	14-13-13	29-29-28	
11,5′	—	10-9-9	27-27-26	

Rana esculenta di gr. 38. Preparazione come sopra.

SPECCHIETTO n. 2.

Tempo	Quantità del veleno	Altezza della curva di contrazione in millimetri		Distanza dei rocchetti in centimetri
		Eccitazione diretta	Eccitazione indiretta	
ore 9	—	35-35-36	20-20-20	
9,5′	1 centig.			
9,15′	—	28-28-27	18-17-18	
9,35′	—	26-25-25	17-17-16	$0^m,12$
10,5′	—	24-24-24	16-15-15	
10,30′	—	24-23-23	15-15-14	

Rana esculenta di gr. 40. Si lega l'arteria iliaca destra e si mettono allo scoperto entrambi i muscoli gastrocnemii.

SPECCHIETTO n. 3.

Tempo	Quantità del veleno	Altezza della curva di contrazione in millimetri		Distanza dei rocchetti in centimetri
		Eccit. diretta gastrocnemio destro	Eccit. diretta gastrocnemio sinistro	
ore 8	—	37-37-37	39-40-40	$0^m,12$
8,5′	2 centig.			
8,15′	—	37-37-36	35-34-34	
8,35′	—	36-35-35	30-30-29	
8,45	—	35-34-34	27-27-26	
9	—	34-33-32	26-25-25	

Rana esculenta di gr. 37. Si lega l'arteria iliaca destra, si preparano ambedue gli sciatici e ambedue i gastrocnemii.

SPECCHIETTO n. 4.

Tempo	Quantità del veleno	Altezza della curva di contrazione in millimetri		Distanza dei rocchetti in centimetri
		Eccit. indiretta sciatico destro	Eccit. indiretta sciatico sinistro	
ore 11	—	33-32-32	31-31-31	$0^m,12$
11,5′	2 centig.			
11,15′	—	32-32-31	30-29-29	
11,35′	—	31-31-30	29-28-28	
12	—	30-30-29	27-26-26	

Basta dare uno sguardo alle cifre riferite per convincersi che la licoctonina, anche in dosi molto piccole, produce una notevole diminuzione dell'eccitabilità muscolare diretta, la quale sotto l'influenza di dosi forti può quasi spegnersi del tutto, mentre modifica nello stesso senso, ma in misura più limitata, l'eccitabilità muscolare indiretta. La forma della contrazione non è menomamente modificata: a prova di ciò riproduco la seguente esperienza.

Rana esculenta di gr. 37. Condizioni dell'esperimento identiche alle precedenti.

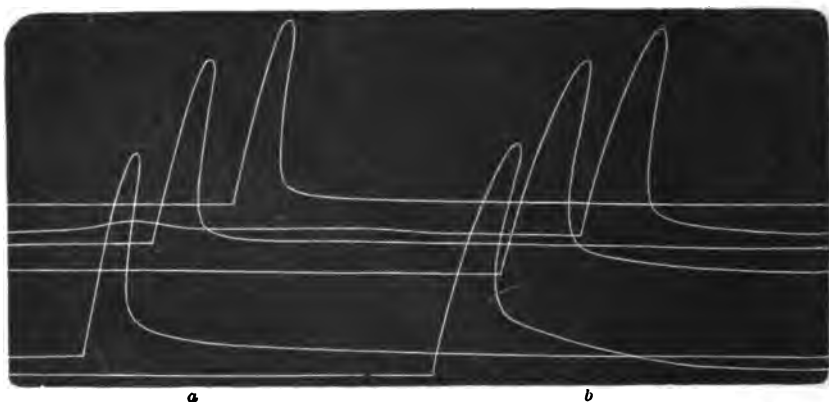
FIGURA 1.

Il gruppo *(a)* rappresenta tre curve di contrazione del gastrocnemio da eccitazione indiretta, il gruppo *(b)* quelle da eccitazione diretta.

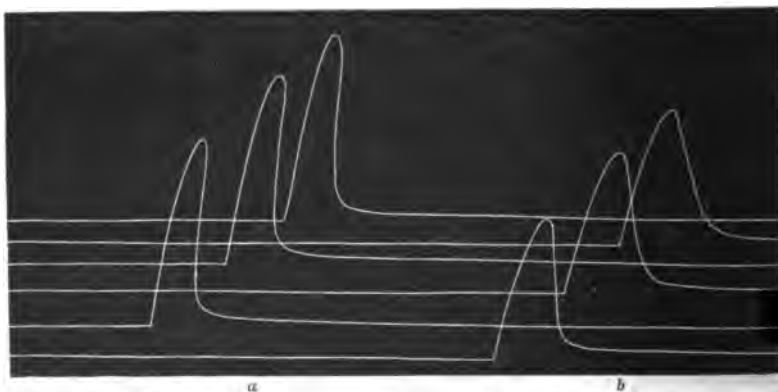
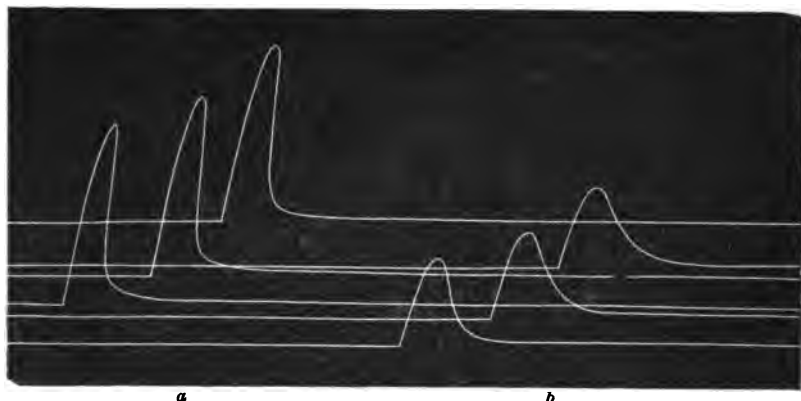
FIGURA 2.

(a) e *(b)* hanno lo stesso significato; tracciato ottenuto 10' dopo l'azione di gr. 0,02 di Lictonina.

FIGURA 3.

Idem, dopo 20′.

I risultati di queste esperienze ci portano naturalmente a completare quanto è stato detto a proposito dell' azione generale, cioè ad ammettere che la licoctonina, oltre ad un' azione centrale sul sistema nervoso, possiede un' azione periferica, prevalente sulla fibra muscolare striata. Se si confrontano i risultati di queste mie esperienze con quelli ottenuti nel 1883 da Bufalini, appare evidente una discrepanza nel senso che, mentre per questo A. l' eccitabilità muscolare diretta è poco o punto colpita di fronte a quella indiretta, secondo le mie esperienze accade il contrario. Se peraltro si considera che le esperienze si riferiscono a una sostanza di natura chimica tutt' altro che bene definita, si comprende di leggieri che la contradizione è forse più apparente che reale, tanto più che la Farmacologia ci offre numerosi esempi di questo genere, i quali acquistano il valore di un criterio di analogia favorevole al modo di vedere antecedentemente espresso.

Dopo avere riferito i risultati relativi all' azione nerveo muscolare, passo a descrivere quelli che si riferiscono all' azione cardiaca della licoctonina, prima sugli animali a sangue freddo, poi su quelli a sangue caldo. Fra i primi ho scelto la rana (R. esculenta) e il rospo (Bufo vulgaris) ed ho sperimentato tanto sul cuore in sito quanto sul cuore fuori di sito. Ho adoprato la pinza di Marey coll' aggiunta della piastra di Verdin e l' appa-

recchio di Williams, impiegando, come liquido circolante, una miscela di 1/3 di sangue di bue defibrinato e di 2/3 di soluzione fisiologica. Per regola ho tenuto il sistema di avvelenare il sangue circolante; qualche volta però, per ragioni speciali, ho avvelenato anche il bagno esterno.

A. *Cuore in sito.* — Sotto l'influenza della licoctonina iniettata sotto la pelle si osserva quanto segue:

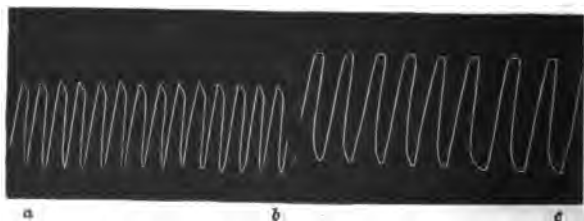
1° La frequenza dei movimenti cardiaci va lentamente ma progressivamente diminuendo fino a ridursi in un periodo avanzato a meno della metà della frequenza normale. In questo periodo si verificano quando a quando delle irregolarità nella frequenza medesima, dovute a pause più prolungate, ma non uniformi tra loro. Dopo questo periodo la frequenza va gradatamente ritornando verso la normale fino a raggiungerla.

2° Anche l'altezza dell'escursione cardiaca va lentamente e progressivamente diminuendo, peraltro in modo limitato; raggiunge circa la metà dell'altezza primitiva allorquando la frequenza è ritornata al livello normale.

3° La forma del tracciato non subisce modificazioni degne di nota; quelle che si osservano sono riferibili alle modificazioni di frequenza espresse più sopra.

4° Tutto ciò si ottiene con dosi corrispondenti a gr. 0,43 per kgr. di rospo; con dosi poco inferiori si hanno gli stessi fatti salvo che all'abbassamento dell'escursione cardiaca precede una fase, benchè fugace, di aumento di altezza. A dimostrazione di quanto si è detto riporto le seguenti esperienze.

I. *Bufo vulgaris* di gr. 75. Condizioni sperimentali vedi sopra. Pinza Marey.

FIGURA *A*.

Da *(a)* e *(b)* Cardiogramma normale
da *(b)* a *(c)* dopo l'iniezione intraperitoneale di gr. 0,01 di licoctonina.

II. *Bufo vulgaris* di gr. 75. Condizioni sperimentali vedi sopra.

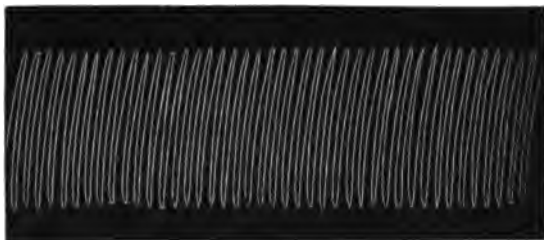
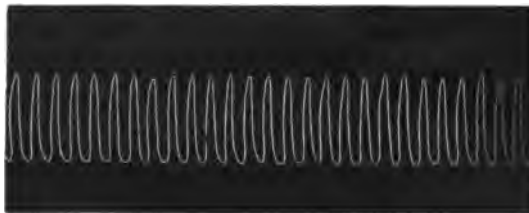
FIGURA *B*.

Cardiogramma normale (Pinza Marey).

FIGURA *C*.

Cardiogramma preso dopo un' iniezione intraperitoneale di gr. 0,02 di licoctonina.

FIGURA *D*.

Idem, a periodo più inoltrato dell' azione.

B. *Cuore distaccato*. — Con dose di cinque centigr. di licoctonina su 100 cc. di sangue si osserva un arresto diastolico abbastanza pronto preceduto da una breve fase di aumento di altezza. Se sollecitamente si fa circolare sangue normale si ha una fase di irregolarità caratterizzata da alternative di aumento e di diminuzione di altezza e forte rarefazione, (se invece si indugia nel sospendere l' azione del veleno l' arresto può farsi

definitivo) in seguito una fase con regolare aumento e rarefazione dell'escursione, e da ultimo si ha un ritorno al tipo normale. La sollecitudine con cui si verifica questo ritorno è inversamente proporzionale alla durata dell'avvelenamento. Avvelenando di nuovo il cuore si ha un repentino arresto diastolico; rimettendo in circolazione il sangue normale si osservano i fenomeni sopraddetti. Questo avvicendarsi di fenomeni si può osservare solo entro certi limiti; il cuore piano piano si esaurisce e finisce per arrestarsi in modo definitivo. Con dosi minori si ha una fugace fase di aumento di altezza con rarefazione, dopo essa il tracciato lentamente e progressivamente si abbassa, mentre persiste, anzi si fa più accentuata, la rarefazione senza arrivare all'arresto diastolico antecedentemente descritto. Facendo dopo molto tempo circolare sangue normale non si ottengono modificazioni notevoli. Riproduco come tipo la seguente esperienza.

Cuore di Bufo vulgaris. App. Williams.

FIGURA X.

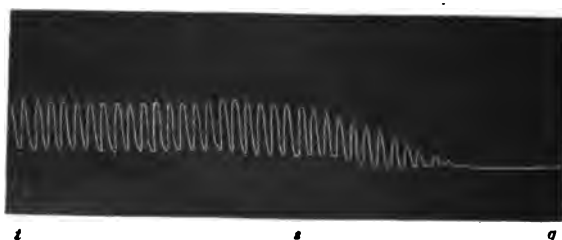
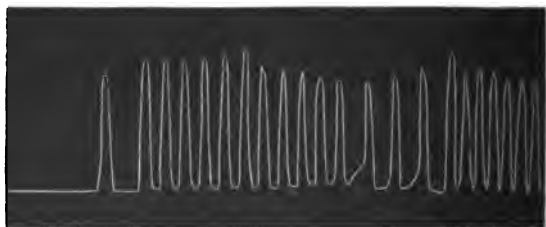
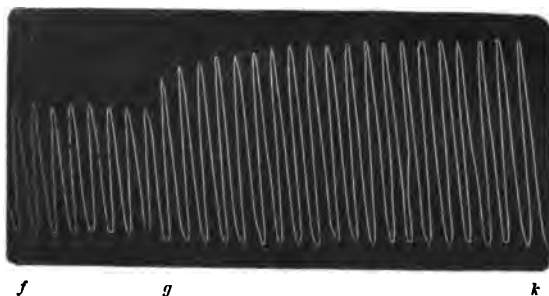
t s q

Da *(t)* a *(s)* tracciato normale.
Da *(s)* a *(q)* tracciato sotto l'influenza del sangue avvelenato (gr. 0,05 licoctonina per 100).

FIGURA Y.

Cardiogramma dopo che si è rimesso in circolazione il sangue normale.

Restava da cercare il meccanismo di quest' azione cardiaca. A tale scopo io mi sono servito di quel reattivo fisiologico così sicuro che è l'atropina. Per fare agire questa sul cuore simultaneamente alla licoctonina ho tenuto due vie diverse. Talvolta ho prodotto dapprima un avvelenamento per licoctonina così grave da essere impossibile rimuoverlo semplicemente facendo circolare sangue normale. A questo punto facevo circolare il sangue atropinizzato in dose conveniente. Talvolta invece atropinizzavo dapprima il cuore mediante il sangue circolante e successivamente lo sottoponevo all'azione della licoctonina, e quando avevo il dubbio che l'atropinizzazione del bagno interno non fosse sufficiente aggiungevo ancora atropina al bagno esterno.

Sotto l'influenza dell'atropina ho visto costantemente e rapidamente sparire gli effetti caratteristici della licoctonina anche quando questa era impiegata in dosi doppie di quelle necessarie per procurare l'arresto diastolico repentino. Solamente sulla rarefazione dei movimenti l'atropina non sembra avere notevole influenza. La licoctonina applicata ad un cuore atropinizzato dà luogo senz'altro ad un aumento di altezza abbastanza notevole dell'escursione. Come esempio presento la seguente esperienza.

Cuore di Bufo vulgaris. App. Williams.

FIGURA Θ.

Da *(f)* a *(g)* cardiogramma sotto l'influenza dell'atropina.
Da *(g)* a *(k)* sotto quella di gr. 0,10 di licoctonina.

Come si possono interpretare tutti questi fatti e metterli in accordo con quelli precedentemente descritti? Attesochè, come

è noto, l'atropina deprime l'eccitabilità dell'apparecchio d'arresto intracardiaco in modo intenso e sicuro, si può ritenere a priori che la licoctonina possegga la capacità di eccitare questo stesso apparecchio, ma che la sua azione possa essere rimossa o impedita da quell'antagonista dell'atropina. Ammettendo per la licoctonina un simile meccanismo d'azione si potrebbe, oltre all'arresto diastolico, spiegare ancora la fase di aumento di altezza con rarefazione che precede l'arresto anzidetto. Bisogna peraltro convenire che l'azione della licoctonina deve essere da un lato molto rapida e dall'altro poco profonda e durevole inquantochè, allorquando le dosi non siano eccessive, basta il sangue normale per distruggerla, mentre quando le dosi sono molto forti si ottiene prontamente l'effetto col sangue atropinizzato. Ciò armonizza ancora col fatto, già messo in rilievo, che la possibilità di salvare il cuore dall'azione della licoctonina è tanto più facile quanto più lieve è il tempo durante il quale essa ha agito.

La fase di aumento di altezza con rarefazione precedente l'arresto diastolico, si potrebbe anche spiegare ammettendo un'azione eccitante sul muscolo insieme a quella sull'apparato di arresto. Tale azione dovrebbe per altro essere molto debole, poco duratura: ma allora non si saprebbe spiegare perciò con un esaurimento della medesima l'arresto diastolico improvviso del cuore.

In favore però di quest'azione eccitante, benchè lieve, sul muscolo di fronte a quella notevole sull'apparato di arresto, parla il fatto che la prima si rende più evidente allorquando l'influenza dell'ultima è tolta di mezzo mediante l'atropina.

Perciò, riepilogando, possiamo ritenere che il meccanismo d'azione cardiaca della licoctonina consista innanzi tutto in un azione eccitante piuttosto intensa sull'app. di arresto intracardiaco e insieme in una debole azione eccitante sul miocardio. Frattanto, attesa la facilità colla quale gli effetti della licoctonina possono essere rimossi, attese le osservazioni sul cuore in sito e considerando il fatto che il cuore è, si può dire, l'ultimo a risentire l'azione tossica della licoctonina stessa, dobbiamo convenire che essa non si può considerare come un veleno cardiaco dei più intensi.

Confrontando ora i risultati delle mie ricerche con quelli del Torsellini che è il solo che si è occupato dell'azione cardiaca, si vede che presso a poco coincidono, se si eccettua la fase di passeggiero aumento di frequenza da lui osservato, probabilmente riferibile alle qualità speciali del prodotto chimico usato.

Frattanto i risultati da lui ottenuti col cuore legato nel solco parlano in favore delle opinioni da me espresse circa al meccanismo d'azione della licoctonina.

Quanto agli ematermi è stato sperimentato sul cane.

Rinunzio alla descrizione della tecnica perchè troppo nota e presento subito qualche esperienza.

Esperienza N. 1. — Cane di razza incrociata, kg. 9. Manometro nell'art. femorale sinistra.

Tempo	Pressione media in mm. di Hg	*OSSERVAZIONI*
Ore 10,8'	190	Iniezione intravenosa di 8 cgr. di licoctonina.
10,10'	189,7	Idem
10,12'	186	

Esperienza N. 2. — Cane da pastore di 15 kg. Manometro nell'arteria femorale sinistra.

Tempo	Pressione media, in mm. di Hg	*OSSERVAZIONI*
Ore 9	172	Iniezione intravenosa di 10 cgr. di licoctonina.
9,2'	176	Idem
9,4'	178	Idem
9,6'	175	Idem
9,8'	170	

Esperienza N. 3. — Cane di kg. 7. Manometro nella femorale destra.

Tempo	Pressione media in mm. di Hg	*OSSERVAZIONI*
5 pom.	185	Iniezione intravenosa di 8 cgr. di licoctonina.
5,1′	184	
5,2′	182	
5,3′	183	

Dalle esperienze risulta essenzialmente quanto segue:

1° La pressione sanguigna anche per dosi corrispondenti a tre centigrammi per kg. di animale non viene sensibilmente influenzata.

2° Talvolta sono abbastanza bene rilevabili un aumento dell'escursione sistolica e una diminuzione di frequenza del polso.

Questi risultati, come appare chiaro, vanno d'accordo da un lato con i risultati poco manifesti o negativi del tutto ottenuti negli ematermi anche con dosi rilevanti di veleno e riferiti nel capitolo dell'azione generale, dall'altro con i risultati delle ricerche cardiografiche sugli animali a sangue freddo.

Visti i risultati sperimentali ottenuti sarebbe stato forse conveniente estendere le ricerche su altri apparecchi e sistemi oltre a quelli studiati. Senonchè da un lato la ristrettezza del tempo e dall'altro la scarsità del prodotto in questione e insieme la variabilità riscontrata rispetto all'azione dei diversi campioni e dopo tutto la relativa insensibilità degli animali superiori a questo veleno, mentre su di essi solamente sarebbe stato possibile mandare ad effetto tale disegno, mi hanno reso impossibile, almeno per ora, il proseguire. Del resto io credo che le ricerche da me eseguite, riunite a quelle degli sperimentatori che mi hanno preceduto, siano sufficienti affinchè gli studiosi si possano formare un concetto sull' azione della licoctonina.

Nello stato attuale delle nostre conoscenze chimiche e fisiologiche sull'argomento, si comprende facilmente che non è possibile intravedere un orizzonte di applicazioni terapeutiche: quando anche si volesse prendere in considerazione quella specie di azione riordinatrice della funzione cardiaca messa in rilievo sperimentalmente da Torsellini, io credo che non sarebbe possibile trasportarla nel campo clinico con speranza di risultati. La poca sensibilità degli animali superiori e dell'uomo verso la licoctonina mi fanno ritenere questo concetto; delle resto anche i tentativi clinico-terapeutici eseguiti da Bufalini hanno corrisposto a questo mio modo di vedere. Con tutto ciò non si può escludere che, allargandosi le conoscenze, sopratutto chimiche sull'alcaloide o meglio sulla composizione della droga, non sia possibile, in un avvenire non lontano, registrare anche l'A. Lycoctonum e i suoi principii attivi tra i farmaci propriamente detti. E tanto più sono di quest'avviso in quanto che l'attività della droga sugli animali superiori estremamente più notevole di quella della licoctonina sta a provare che quest'ultima non rappresenta il principio attivo o almeno l' unico principio attivo della medesima.

Un paragone fra la licoctonina e l'aconitina dopo gli studi accuratisssimi di Laborde e Dusquenel non sembra a priori possibile, per quanto stretta possa essere l'affinità fra le due piante che danno origine ai due alcaloidi. Questi infatti si somigliano fra loro soltanto da un punto di vista generale, in quanto che entrambi rappresentano dei veleni del sistema nervoso, ma il meccanismo con cui detta azione si esplica è estremamente diverso nei 2 casi.

Nè ciò dopo tutto deve recare maraviglia, poichè è noto che anche delle piante botanicamente affini possono essere dotate di proprietà diverse sopratutto per grado ma anche per natura. Tale variabilità come è noto può essere relativa a condizione di suolo, di clima, di stagione, ecc.

Non posso chiudere questo lavoro senza esprimere la mia riconoscenza al Prof. Bufalini che mi ha iniziato e diretto in queste ricerche.

BIBLIOGRAFIA

ANTONIO TARGIONI-TOZZETTI, Corso di Botanica Medico-Farmaceutica e di Materia Medica, Firenze 1849.

DUYARDIN-BEAUMETZ et E. ÉGASSE, Les plantes médicinales, etc., Paris 1889.

G. DRAGENDORFF e H. SPOHN, Pharm. Zeits. f. Russl. Tomo 23 (delle ricerche di questi AA. trovasi un sunto negli Annali di Chimica Medico-Farmaceutica e Farmacologia di P. Albertoni e I. Guareschi, Fasc. di Gennaio 1885).

JSAAC OTT, Physiological action of Licoctonia, Philad. med., Times, ottobre 1875.

JACOBOWSKY GOTTHARD, Beitrag zur Kenntniss der Alkaloide des Aconitum Lycoctonum. 1. Lycaconitin Diss. 8, 48. Ss 1884 Dorpat.

SALMONOWITZ SALOMON, Beitr. z. K. Alkol. des. Acon. Lycoctonum. II Myoctonin. Diss. 8. 59 Ss, Dorpat. (veggansi i resoconti nell'Jahresbericht über die Leistungen und Fortschritte in der Gesamnten Medicin, ecc. Von Rud. Virchow und Aug. Hirsch, 1885, 1, 448).

ROSENDAHL HENRIK VICTOR, Pharmacologische Untersuchungen betreffend das Aconitum septentrionale, Ibidem. 1894, 1, 413.

TORSELLINI, Dell' azione degli Alcaloidi dell' Aconito sul cuore, Siena 1883.

BUFALINI G., Sul decorso dell'eccitabilità muscolare in alcuni avvelenamenti acutissimi. Siena 1884.

LABORDE et DUSQUENEL, Des Aconits et de l'aconitine, Paris 1883.

Laboratorio di Patologia Generale del R. Istituto di Studi Superiori in Firenze
diretto dal prof. **A. Lustig.**

RICERCHE SUI FENOMENI DELL' IMMUNITÀ

IN ALCUNI VERTEBRATI INFERIORI

DEL

DOTT. GINO GALEOTTI.

Mentre eseguivo una serie di ricerche sopra alcune tartarughe palustri, si sviluppò tra esse una epidemia e in pochi giorni tutte andarono a morire. Il dott. Polverini isolò dal sangue di questi animali un microrganismo, di cui le proprietà biologiche in parte collimano con quelle del B. ranicida dell'Ernest. Però questo autore non dà del bacterio da lui trovato una descrizione sufficientemente particolareggiata, quindi non si potè decidere in modo assoluto se questo vada identificato o no col ranicida. (1)

La sua proprietà più importante è quella di essere eminentemente patogeno per moltissimi animali a sangue freddo, mentre non lo è punto per i mammiferi e per gli uccelli. Questo ultimo fatto si spiega benissimo, perchè il microrganismo non si sviluppa a 37°. (2)

Non mi occuperò a descrivere i caratteri biologici di esso, poichè non hanno invero alcuna importanza; dirò solo che cresce benissimo su tutti i terreni di cultura, vegeta abbondantemente sulle patate, fluidifica la gelatina.

I caratteri microscopici sono: bacillo corto, tozzo, ad estre-

(1) Nonostante ciò, per comodo di esposizione, seguiterò a dare il nome di *b. ranicida* al microrganismo da me adoperato nelle seguenti esperienze.

(2) Per questo e per il modo con cui si sviluppa sulle patate questo microrganismo differisce essenzialmente dall' *Hydrophylus fuscus* di Sanarelli.

mità arrotodate, un po' ristretto nel mezzo, sembra circondato da una capsula; somiglia assai a quello della peste bubbonica.

Pensai di utilizzare questo microrganismo per uno studio di indole generale sulla immunità; volli cioè con esso eseguire una serie di esperienze, destinate a ricercare alcune delle modalità, con cui il meccanismo della immunità si esplica. Il fenomeno della immunità è certamente molto complesso, e, per studiarlo praticamente, bisogna preferire quelle condizioni, in cui si può pensare che esso vada svolgendosi in un modo più semplice.

Come dirò in seguito, nel caso presente, queste condizioni di maggior semplicità si verificano, mancando nella sindrome morbosa dell' infezione il momento tossico, mancando localizzazioni speciali negli organi più importanti.

Da altra parte i vertebrati inferiori, poco usati fin qui per lo studio delle malattie infettive, si prestavano assai al mio scopo per la loro resistenza in generale ai processi di immunizzazione e specialmente per la capacità che hanno le cellule dei loro organi a restar viventi per parecchio tempo, anche dopo che gli organi furono separati dall'animale, fatto questo che è p. es. all'evidenza dimostrato dagli epiteli vibratili.

Esperimentai su molti animali a sangue freddo, e specialmente usai le salamandre, i rospi, le rane e le tartarughe.

Praticai generalmente le infezioni, iniettando nella cavità peritoneale una goccia o due di emulsione, in acqua distillata, di coltura in agar. In questo modo si ha una malattia assai rapidamente mortale. Ma del resto basta semplicemente scalfire l' epidermide e passare sopra la lesione con l'ago di platino, carico di bacteri, per produrre l' infezione. Moltissime salamandre ammalarono e morirono spontaneamente, solo per essere state messe in vasi, in cui avevo in precedenza tenuto animali infettati. La malattia decorre assai più rapidamente se la temperatura dell'ambiente è tra 18° e 20°, ed allora la morte può avvenire in circa 12 ore. Per questo, in tutte le mie esperienze, ho sempre tenuto gli animali indistintamente entro un termostato a 20°.

Le salamandre morte per infezione appaiono assai edematose. Alla sezione si trova sempre un abbondante essudato pe-

ritoneale, ricchissimo di leucociti e di bacilli. I visceri appaiono normali, soltanto il fegato è un po' ingrossato e diventato più scuro e la milza raggiunge un volume che è 2, 3 e 4 volte maggiore di quello normale.

L'esame microscopico del sangue dimostra che si tratta in ogni caso di una vera setticemia. I bacilli si trovano abbondantissimi nel plasma. Ogni leucocito è carico di bacteri, i quali sono in parte in via di distruzione; questi fenomeni fagocitarî sono specialmente notevoli negli elementi fissi della milza. Col sangue i bacteri arrivano in tutti gli organi, ed in tutti questi si possono ritrovare, sia dentro i vasi, sia, fuoriusciti da questi, nei fasci connettivali e negli interstizi cellulari, proprio in contatto con le cellule dei parenchimi.

Ho fatto una serie di ricerche, destinate a rintracciare se esistessero alterazioni cellulari sebbene delicatissime, nelle varie cellule di animali morti dopo circa 12 ore di malattia e di cui i vari organi erano fissati immediatamente appresso la morte. Usai a tale scopo i diversi metodi citologici. Presi specialmente in considerazione il sistema nervoso centrale, il cuore, il fegato, la milza, i reni, l'intestino e il sangue.

Nella milza l'aumento di volume era solo determinato da un maggiore afflusso di elementi del sangue: in essa verificai però aumento nella distruzione dei corpuscoli rossi. Nel sangue trovai un maggior numero di corpuscoli rossi in via di vacuolizzazione e numerosi leucociti con nucleo in incipiente cromatolisi. Ma negli altri organi non trovai alterazioni cellulari di nessuna specie, e gli organi studiati non differivano da quelli normali. (1)

Quale è dunque la causa della morte dell'animale?

Da principio naturalmente pensai che in questa infezione predominasse un momento tossico e che la morte fosse la conseguenza di una grave, acuta intossicazione, e quindi feci al-

---

(1) Se però la malattia ha durato più di 12 ore (cioè da 18 a 24) allora incominciano ad apparire alterazioni e specialmente: rigonfiamento delle cellule, comparsa in esse di punti ialini e talvolta anche dei veri disfacimenti necrotici. Quanto più ha durato la malattia tanto più sono a luogo a luogo notevoli queste alterazioni.

cune esperienze destinate a mettere in evidenza questo principio tossico, che cominciai a ricercare nelle colture.

Filtrai dapprima delle culture in brodo di 10 e di 20 giorni provenienti dal bacillo virulentissimo, ed iniettai in salamandre e rane il filtrato, completamente privo di bacteri, (in quantità variabili da 1 a 2 cm.). Alcuni di questi animali morirono dopo 3, 4, 5 giorni, mostrando un grave edema diffuso, però mi convinsi ben presto che l' intossicazione prodotta era semplicemente dovuta al peptone e al cloruro di sodio contenuto nel liquido culturale.

Piccole quantità di filtrato non ebbero alcuno effetto, mentre è noto che in generale le tossine bacteriche agiscono anche in dosi piccolissime.

Cercai allora un liquido culturale privo di peptoni e di ClNa ed assai utile mi riuscì una soluzione di caseina (in acqua alcalinizzata con carbonato sodico). In questo terreno di cultura, che ho poi adoperato assai frequentemente per diverse esperienze, il bacillo da me studiato si sviluppa benissimo. (1)

Filtrai alcune culture fatte in tale liquido e di 10, 20, 30 giorni di età ed iniettai il filtrato in salamandre e rane nella quantità di $^1/_2$ a 1 $^1/_2$ cmc. per le salamandre e di 1-3 cmc. per le rane. *Nessuno degli animali morì.*

Pensai quindi che potessero esser tossici i corpi dei bacteri stessi o meglio le sostanze in essi contenute. Iniettai quindi in altre salamandre e rane delle emulsioni di bacteri sviluppatisi sull'agar od uccisi col riscaldamento a 45°-50°. In nessun caso ebbi la morte degli animali. Esperimentai anche delle soluzioni di un nucleoproteide che, come dirò in seguito, estrassi dai corpi dei bacteri. In questo caso ebbi i seguenti resultati.

(1) Preparai da me stesso la caseina nel modo seguente. Prendevo una quantità determinata di siero di latte (latte spannato) e ne precipitavo la caseina, acidificando con acido acetico. Discioglievo il precipitato raccolto con soluzione di idrato sodico e precipitavo nuovamente con acido acetico. Lavavo quindi il precipitato con molta acqua e lo sbattevo poi con alcool prima ed etere poi. La sostanza secca veniva finalmente disciolta in tanta soluzione di carbonato sodico da ritornare al volume primitivo del latte. Sterilizzavo poi tale soluzione a 100° per tre volte.

I microrganismi coltivati nella soluzione di caseina conservano la loro completa virulenza.

Dopo l'iniezione di piccole quantità, gli animali non presentarono alterazioni; iniettando invece grandi dosi, sia sottocute, sia nel peritoneo, le salamandre e le rane morirono dopo 3-5 giorni, la sezione e l'esame microscopico mi rivelarono la presenza di focolai di necrosi da coagulazione a cui probabilmente era dovuta la morte tardiva degli animali. In nessun caso ebbi la morte in 12 ore come avviene nella infezione.

Mi sembra adunque per tutto ciò dimostrato che non esistono principi tossici per gli animali soggetti alla infezione, nè nei liquidi culturali, nè nel corpo del bacillo da me studiato.

Finalmente volli provare se fosse il caso, che si potessero produrre sostanze tossiche nell'organismo stesso degli animali infettati, per l'azione dei microrganismi sugli elementi cellulari e sui succhi organici. A tale scopo feci l'infuso in acqua distillata, contenente disciolta una traccia di Cl Na, di visceri e muscoli di rane e salamandre morte per infezione (una parte in peso di tessuti e 4 di liquido), filtrai il liquido attraverso la candela di Chamberland, e lo iniettai in altre salamandre normali nella quantità di $^1/_2$-1 $^1/_2$ cmc. Ripetei analoghe esperienze per le rane (la quantità del liquido iniettato fu in questo secondo caso di 1-3 cmc.). Non ebbi mai la morte dell'animale.

Mi sembra adunque di poter concludere che la morte degli animali infettati non avviene in conseguenza di una intossicazione.

Quale dunque è la causa della morte, giacchè, mancando, come sopra ho detto ogni alterazione morfologica, non si può ammettere neppure una qualche azione meccanica dei microrganismi sulle cellule dei tessuti, o su qualche organo indispensabile alla vita?

È certo che in questo caso i protoplasmi cellulari di molti organi parenchimatosi (e presumibilmente i protoplasmi di quelle cellule che sono dotate di una minore energia di resistenza contro gli elementi deleteri dell'ambiente e che si vedono per le prime soccombere dinanzi ad essi) muoiono rapidamente per dato e fatto della vicinanza di questi microrganismi patogeni. Ma quali sono i mezzi con cui i microrganismi uccidono così presto le cellule?

A questo importantissimo problema, che non ha ancora mai avuto una soluzione generale, rivolsi da principio le mie ricerche, poichè mi sembrava di essere in condizioni favorevoli per la sua trattazione, ma non potei giungere ad alcuna conclusione definitiva.

I. — Esperienze sulla immunità

Sostanze capaci di conferire l' immunità alle salamandre ed alle rane.

Feci numerose esperienze su rane, su salamandre e su rospi allo scopo di conferire ad essi l' immunità. Di queste ne riporterò alcune come le ho estratte dal mio protocollo.

1. — Esperienze con cultura e con batteri uccisi mediante il calore.

Animale	Qualità del vaccino iniettato	Quantità del vaccino iniettato	Quantità della emulsione di bacilli virulenti iniettati	Giorni intercorsi tra la vaccinaz. e la infezione	Resultato
Salamandra	Coltura in brodo riscaldato a 100° per 10 minuti.	1/2 cmc. in 1 volta	1/10 di cmc	3	Muore
Salamandra	Idem.	1/4 cmc. in 2 gior.	1/10 di cmc	4	Muore
Salamandra	Idem.	1/2 cmc. in 3 gior.	1/10 di cmc	3	Muore
Rana	Idem.	1/2 cmc. in 1 volta	1/3 di cmc	3	Muore
Rana	Idem.	1/2 cmc. in 3 gior.	1/3 di cmc	4	Muore
Salamandra	Coltura in brodo riscaldato a 50° per mezz' ora.	1/3 cmc. in 1 volta	1/10 di cmc	3	Muore
Rana	Idem.	1/2 cmc. in 2 volte	1/3 di cmc	3	Muore

Animale	Qualità del vaccino iniettato	Quantità del vaccino iniettato	Quantità della emulsione di bacilli virulenti iniettati	Giorni intercorsi tra la vaccinaz. e la infezione	Resultato
Salamandra	Emulsione di bacteri sviluppatisi in agar e riscaldati a 50° per mezz' ora.	$^1/_2$ cmc. in 3 volte	$^1/_{10}$ di cmc	4	Muore
Salamandra	Idem.	$^1/_2$ cmc. in 2 gior.	$^1/_{10}$ di cmc	8	Vive, ma resta edematosa per molto tempo.
Rana	Idem.	1 cmc. in 1 volta	$^1/_3$ di cmc	4	Muore
Rana	Idem.	1 cmc. in 3 gior.	$^1/_3$ di cmc	4	Vive
4 Rospi	Cultura in soluzione di caseina riscaldata a 50° per $^1/_2$ ora.	1 cmc. per uno in 1 volta	$^1/_3$ di cmc	6	Vivono
Salamandra	Filtrato di una cultura in brodo di 15 giorni.	$^1/_2$ cmc. in 1 volta	$^1/_{10}$ di cmc	8	Muore
Salamandra	Idem.	$^1/_2$ cmc. in 2 gior.	$^1/_{10}$ di cmc	8	Muore
3 Salamandre	Idem.	$^1/_{10}$ cmc. per gior. per 4 gior. alternan.	$^1/_{10}$ di cmc	6	Vivono
2 Rane	Filtrato di una cultura in brodo di 15 giorni.	$^1/_4$ di cmc in 2 gior.	$^1/_3$ di cmc	6	Vivono
2 Rane	Idem.	$^1/_2$ cmc. in 1 volta $^1/_3$ nel giorno successiv.	$^1/_3$ di cmc	6	Muoiono
Salamandra	Filtrato di una cultura in soluzione di caseina di 20 giorni di età.	$^1/_3$ di cmc in 1 volta	$^1/_{10}$ di cmc	8	Vive

Animale	Qualità del vaccino iniettato	Quantità del vaccino iniettato	Quantità della emulsione di bacilli virulenti iniettati	Giorni intercorsi tra le vaccinaz. e la infezione	Resultato
2 Salamandre	Idem.	1/4 di cmc p. giorno per 2 gior.	1/10 di cmc	4	Vivono
2 Salamandre	Idem.	1/5 di cmc p. giorno per 3 gior.	1/10 di cmc	4	Vivono
3 Tartarughe	Idem	1/3 di cmc p. giorno per 3 gior.	1/3 di cmc	6	Vivono
2 Tartarughe	Idem.	1 cmc per una in 1 volta	1/2 cmc	8	Vivono

Da queste esperienze risulta che non furono atte a conferire le immunità nè le culture in brodo, nè i corpi dei bacteri riscaldati a 50° o 60°. Che i filtrati della cultura in brodo posseggano un certo potere vaccinale, il quale però generalmente è sopraffatto dalla tossicità delle sostanze contenute nel brodo per cui gli animali si indeboliscono e non possono reagire contro la infezione.

Il filtrato della cultura in soluzione di caseina si dimostrò invece sempre efficace.

Tentativi di isolamento delle sostanze vaccinanti contenute nei liquidi culturali o nei bacteri

A). — Cultura in brodo di un mese d'età.

Si filtra con candela di Chamberland.

Liquido leggermente alcalino. Acidificandone una porzione non si ha notevole intorbidamento.

1° Ne saturo una metà con solfato magnesico. Si forma un leggero precipitato fioccoso che vien raccolto su filtro, la-

vato con soluzione satura di solfato magnesico, sciolto in acqua leggermente alcalina e dializzato. Questa sostanza è *efficace* per produrre la immunità anche se iniettata in quantità piccolissima.

2° Nel filtrato ottenuto dopo la saturazione con solfato magnesico sciolgo a saturazione (temp. 18°) del solfato sodico. Il precipitato lavato, ridisciolto e dializzato è pure *efficace*.

3° La seconda porzione viene saturata con solfato ammonico. Il precipitato convenientemente trattato si mostra pure *efficace*.

Da altri filtrati, pure di culture in brodo, ottenni gli estratti alcoolici ed eterici. Essi si mostrarono inefficaci in ogni caso. Così pure risultarono inefficaci le sostanze estratte dalle culture in brodo mediante l'acetato di piombo e il cloruro di zinco.

B). — Sostanze estratte dal filtrato di una cultura in soluzione di caseina di 20 giorni di età.

Acidifico con acido cloridrico diluitissimo. Ottengo un:

1° Precipitato bianco fioccoso. Lavo abbondantemente con acqua acidulata e poi con acqua distillata. Disciolgo poi il precipitato in soluzione di carbonato di soda. Questo liquido ha *notevoli proprietà immunizzanti*.

2° Precipito di nuovo con acido cloridrico. Il precipitato, che ha sempre l'aspetto della caseina, convenientemente lavato e disciolto è *efficace*. Il filtrato (neutralizzato) è invece *inefficace*.

3° Ripeto lo stesso processo. Il precipitato di caseina è ancora *efficace*.

4° Il filtrato ottenuto dopo la prima acidificazione si mostra (dopo la neutralizzazione) anche *efficace*. *Efficaci* pure si dimostrano le sostanze che da esso vennero estratte mediante la saturazione con solfato magnesico o sodico.

C). — Dal corpo dei bacteri estrassi poi un nucleo-proteide dotato di grandissime proprietà vaccinali. Coltivai i bacilli su patate, raschiai le colonie e sciolsi i bacilli in poca soluzione di potassa all'1 °/₀. Trattai quindi la sostanza con acqua acidulata con acido acetico ed ottenni un precipitato fioccoso, che raccolsi su filtro, lavai, ridisciolsi in soluzione alcalina e purificai quindi con una nuova precipitazione. La sostanza così ottenuta, disciolta di nuovo in soluzione di carbonato di soda, *conferì*

l' immunità alle salamandre, alle rane ed alle tartarughe anche se iniettata in quantità piccolissima. Essa fu da me sempre usata in seguito per la immunizzazione degli animali destinati ad altre esperienze ed alla produzione del siero. Mostrò le proprietà chimiche dei *nucleo-proteidi.* (1)

D). Anche mediante il siero di animali vaccinati potei produrre l'immunità. Fu necessario però di usare il siero di animali della stessa specie giacchè invece col siero, anche immunizzante di animali di altra specie in grazia della azione tossica che il siero di una specie di anfibi esercita probabilmente sopra anfibi di altra specie, l' immunità non veniva raggiunta. Ciò mi fu dimostrato da numerose esperienze, di cui riporto le seguenti.

Animale da cui fu estratto il siero	Sostanza adoperata per l'immunizzazione	Animali a cui fu iniettato il siero a scopo vaccinale	Quantità del siero iniettato	Quantità della emulsione infettante iniettata	Resultato
Salamandra	Filtrato di una cultura in soluzione di caseina.	2 Salamandre.	$^{1}/_{10}$ di cmc per animale.	$^{1}/_{10}$ di cmc	Non ammalano.
Salamandra	Nucleo-proteide.	Salamandra	$^{1}/_{10}$ di cmc	$^{1}/_{10}$ di cmc	Non ammala.
Salamandra	Idem.	Rana.	$^{1}/_{5}$ di cmc	$^{1}/_{3}$ di cmc	Muore.
Tartaruga.	Idem.	Salamandra	$^{3}/_{10}$ di cmc	$^{1}/_{10}$ di cmc	Muore in 24 ore.
Tartaruga.	Idem.	Tartaruga.	$^{1}/_{2}$ cmc	$^{1}/_{3}$ di cmc	Non ammala.
Tartaruga.	Idem.	Rana.	$^{1}/_{2}$ cmc	$^{1}/_{3}$ di cmc	Muore in 24 ore.

N.B. — La infezione degli animali vaccinati fu fatta sempre 24 ore dopo l' iniezione del siero. Il sangue fu estratto dall'animale mediante decapitazione o dal cuore e se ne separò il siero centrifugandolo.

(1) Riguardo ai nucleo-proteidi dotati di proprietà immunizzanti ed alle particolarità del metodo usato per estrarli, cfr. GALEOTTI, *Contributo allo studio dei nucleo-proteidi bacterici.* (*Il Morgagni,* 1898).

Per ultimo cercai se, mediante l'iniezione di altri microrganismi, non patogeni per le salamandre, si poteva a queste conferire la immunità verso il bacillo da me studiato. Feci quindi le seguenti esperienze :

Animali	Quantità e qualità della cultura iniettata	Quantità della emulsione infettante iniettata	Resultato
2 Salamandre	$^1/_3$ cmc. di emulsione di cultura in agar di *B. fluorescens putridus.*	$^1/_{10}$	Morte in 18 ore.
2 Salamandre	$^1/_2$ cmc. di emulsione di cultura in agar di *B. mesentericus.*	$^1/_{10}$	Morte in 18 ore.
2 Salamandre	$^1/_2$ cmc. di emulsione di cultura in agar di *Stafilococco piogeno.*	$^1/_{10}$	Una morì in 24 e l'altra in 36 ore.

N.B. — L'infezione fu in ogni caso fatta tre giorni dopo la iniezione preventiva.

Resulta adunque che altri microrganismi, non patogeni per le salamandre, non sono capaci d'immunizzare le salamandre contro il *b. ranicida.*

II. — Sul meccanismo della immunità.

Ho voluto tentare anche in questo caso la solita questione fondamentale di tutto il problema della immunità. Con quale meccanismo vengono uccisi i bacteri nell'organismo dell'animale immunizzato? Ed inoltre: il processo di distruzione avviene nel modo stesso come nel caso, in cui siano introdotti microrganismi non patogeni in un animale normale? Per questo ho fatto sempre una doppia serie di esperienze: da una parte usavo tartarughe immunizzate e *b. ranicida* completamente virulento, da l'altra animali normali e microrganismi non patogeni per essi come il *b. coli* e il *b. fluorescens putridus*. Per essere più sicuro della

immunità usavo animali che, oltre l'immunizzazione, avevano subìto la infezione di prova e non si erano affatto ammalati.

Possiede il siero di tartarughe normali un potere bactericida?

A questo proposito riporto alcune delle esperienze fatte.

Esse vennero così eseguite. Il sangue, estratto dal cuore fu subito centrifugato. Aspirai il siero limpido, *privo di leucociti*, con una sottile pipetta e lo versai in una capsolina di vetro sterilizzata. In esso infusi i microrganismi, che avevo raccolto con la punta di un ago di platino da una cultura in agar. À differenti intervalli di tempo immergevo nel siero così innestato una lunghezza determinata di ago di platino e con questo facevo delle piastre mediante una miscela a parti eguali di agar e gelatina. Dopo 24 ore (temp. 20°) contavo le colonie sviluppate in ogni piastra.

	Numero delle colonie sviluppatesi sulle piastre fatte dopo					
	0 ore	2 ore	4 ore	8 ore	12 ore	24 ore
Siero di tartarughe vaccinate e *B. ranicula* virulento	63	54	152	588	1042	∞
	42	39	120	436	—	—
	21	20	98	324	912	∞
	56	25	104	497	—	—
	15	22	163	—	∞ [1]	—
Siero di tartaruga normale e *B. ranicula* virulento	22	43	175	303	1121	∞
	22	15	197	948	∞	—
	80	57	221	565	—	—
Siero di tartaruga normale e *Bact. coli*	76	68	125	342	—	—
	19	23	87	115	406	—
Siero di tartaruga normale e *B. fluor. putr.*	10	21	248	—	—	—
	38	25	164	216	932	∞

Come si vede dalla tabella precedente, in tutte queste esperienze ebbi un somigliante risultato in ogni caso; che cioè entro

[1] Quando fu possibile furono contate tutte le colonie sviluppatesi sopra le piastre. Altrimenti furono contate solo quelle che si trovavano in un quadrante della scatola. Il segno ∞ significa che le colonie erano tante che era impossibile contarle.

le prime due ore i microrganismi infusi nel siero diminuiscono o per lo meno non aumentano e che nelle ore successive vanno sempre aumentando con notevole progressione.

Ciò avviene tanto nel siero di animali immunizzati quanto nel siero di animali normali e per tutte le tre specie di microrganismi che io ho adoperato.

Debbo dunque escludere ogni azione microbicida in vitro del siero di sangue tanto se esso è dotato di proprietà immunizzanti quanto se non lo è.

Esperienze sulla fagocitosi.

Feci anche alcune esperienze per vedere quale importanza avesse la fagocitosi nella distruzione dei microrganismi.

Studiai dapprima come avveniva la fagocitosi in vitro col seguente semplicissimo metodo.

Iniettai nel peritoneo di salamandre immunizzate o no una miscela a parti eguali di siero di salamandra normale e di soluzione fisiologica di cloruro di sodio in quantità di 1[2 cmc. Lasciando in riposo per qualche ora le salamandre così iniettate e poi aspirando di nuovo il liquido, si trova che esso è carico di leucociti stravasati. Distribuivo delle piccole goccie di questo liquido sopra alcuni vetrini coprioggetti; innestavo le goccie toccandole con un ago di platino sottilissimo, bagnato in una emulsione di microrganismi, rovesciavo i vetrini su porta oggetti da goccia pendente e ne facevo la osservazione microscopica a differenti intervalli. In due casi ho anche fatto il conteggio dei microrganismi mediante le lastre, innestando alla fine della osservazione microscopica i terreni culturali con la punta di un ago immersa nella goccia pendente.

I. — *Leucociti provenienti da salamandre immunizzate.*

Oss. dopo 2 ore. — Tutti i leucociti sono carichi di bacilli. Si vedono ancora molti bacteri liberi. Nella lastra si sviluppano 230 colonie.

Oss. dopo 6 ore. — I leucociti sono sempre carichi di bacilli, alcuni di questi son ridotti a granuli. Molti microrganismi liberi. Nella lastra colonie 204.

Oss. dopo 12 ore. — Quasi tutti i bacilli sono stati inglobati, poichè soltanto raramente se ne vedono alcuni liberi. Colonie N. 63.

Oss. dopo 17 ore. — Non si vedono più bacilli liberi. Entro i fagociti molti bacilli sono ridotti a piccoli granuli. Colonie N. 4.

Oss. dopo 24 ore. — Alcuni leucociti cominciano a disgregarsi e si vedono qua e là nel campo microscopico dei frammenti protoplasmatici di forma irregolare; di questi alcuni, assai refrangenti, sembrano derivare dai corpi bacterici già digeriti da leucociti poi disgregati, altri, meno refrangenti, provengono dal corpo cellulare dei leucociti stessi. Si vedono anche alcuni nuclei di leucociti isolati. Colonie N. 5.

Oss. dopo 48 ore. — Non si vedono bacilli intieri liberi. Leucociti in via di disgregazione. Altri, ancora intieri, mostrano nel loro citoplasma numerose granulazioni, residui dei bacilli digeriti. Colonie N. 5.

2. — *Leucociti provenienti da salamandre normali (non immunizzate).*

Oss. dopo 2 ore. — Leucociti carichi di bacilli. Molti bacteri liberi. Sulla lastra si sviluppano 198 colonie.

Oss. dopo 6 ore. — Il processo di fagocitosi prosegue, giacchè tutti i leucociti sono carichi di bacteri. Molti bacilli liberi. Colonie N. 347.

Oss. dopo 12 ore. — Nei fagociti si comincia a verificare la digestione dei bacteri inglobati. Si vedono ancora alcuni bacteri liberi. Colonie N. 201.

Oss. dopo 17 ore. — Si vedono ancora molti bacteri liberi. Nei leucociti cominciano a verificarsi fatti di degenerazione e disgregazione. Colonie N. 143.

Oss. dopo 24 ore. — Molti leucociti sono disgregati. Il campo del microscopio è pieno di granulazioni protoplasmatiche e di bacteri intieri. Colonie N. 28.

Oss. dopo 48 ore. — Gli stessi fatti. Si vedono ancora dei fagociti sani carichi di bacteri deformati. Nella lastra un gran numero di colonie che non riesco a contare.

Comparando queste due esperienze fra loro e altre che ho fatto nello stesso modo e che mi hanno dato risultati concordanti, posso concludere: che la fagocitosi e la distruzione intracellulare dei bacteri avviene in vetro tanto se i leucociti provengono da salamandre immunizzate, tanto se essi appartenevano a salamandre non preparate — che i leucociti immunizzati hanno un potere assai maggiore per distruggere i bacteri virulenti, e che questi bacteri non si sviluppano nel liquido

che contiene tali leucociti, mentre essi seguitano a moltiplicarsi in presenza di leucociti provenienti da salamandre non trattate — che i fagociti che hanno inglobato bacteri virulenti, se provengono da salamandre immunizzate, si disgregano più tardi di quelli che appartenevano a salamandre normali.

*
* *

Altre esperienze furono destinate a studiare la fagocitosi come avviene nella cavità peritoneale delle salamandre. A questo scopo iniettavo ora in salamandre vaccinate, ora in salamandre normali emulsioni di *b. ranicida* virulenti, di *b. coli* e di *b. fluorescens putridus* e poi a differenti intervalli di tempo osservavo il liquido peritoneale in goccia pendente (aggiungendo talvolta alla goccia un granello di *bleu* di metilene) o in preparati a secco.

Sembrandomi inutile di riferire dettagliatamente queste esperienze, verrò ai loro resultati, i quali concordano con quelli ora enunciati. Cioè potei osservare: che in ogni caso i leucociti conservano il potere di inglobare i bacteri e di distruggerli (o almeno di distruggerne alcuni) — che nella cavità peritoneale delle salamandre vaccinate e iniettate col *b. ranicida* virulento o delle salamandre normali iniettate col *b. ranicida* attenuato, o col *b. coli* la fagocitosi è più rapida, i fagociti presentano solo raramente fatti di degenerazione (in specie vacuolizzazione del nucleo) o di disgregazione — che in questo caso i microrganismi non si moltiplicano e dopo un certo tempo son completamente scomparsi e dal corpo cellulare dei leucociti e del liquido peritoneale — che invece nella cavità peritoneale di salamandre non preparate e iniettate col *b. ranicida* virulento la distruzione intracellulare dei bacteri è meno attiva, e i microrganismi si sviluppano rigogliosamente nel liquido peritoneale e rapidi e numerosi sono i fatti di disgregazione dei leucociti.

Finalmente volli vedere quanto tempo duravano i fenomeni di fagocitosi nella cavità peritoneale di salamandre immunizzate che avevano ricevuto iniezioni di *b. ranicida*, e di salamandre

normali iniettate con il *b. coli*, e che naturalmente non si erano ammalate.

Non ripeterò qui le esperienze fatte che consistevano nell' osservare, dopo diversi intervalli di tempo, il liquido peritonealale delle salamandre iniettate. Mi risultò che, dopo circa 6 giorni si vedevano ancora nel liquido peritoneale leucociti contenenti bacteri o residui di bacteri.

***

Un' altra serie di esperienze fu destinata a studiare direttamente l' azione delle cellule di alcuni organi (fegato, rene, milza, muscoli) sopra bacteri patogeni o no. A questo scopo usai il seguente metodo: preparavo degli aghi di vetro sottilissimi e tutti di eguale calibro. Dopo averli lavati con acqua, alcool ed etere ed averli sterilizzati, ne immergevo la punta (per una lunghezza determinata e costante) in una emulsione in soluzione di ClNa dei bacteri che volevo sperimentare. Affinchè sugli aghi rimanesse sempre uno strato egualmente sottile di liquido praticavo così l' esperienza. Immergevo un'ansa di platino nella emulsione dei bacteri, disponendo quest' ansa carica di una goccia di questa soluzione ad una determinata distanza (circa 3 mill.) da un lastrina di vetro sterilizzata, e poi facevo passare la punta di ogni ago attraverso la goccia fino a che l' estremità dell' ago stesso toccasse la lastrina di vetro. Alcune esperienze preliminari mi dimostrarono (mediante il conteggio sulle lastre innestate con aghi egualmente immersi) che con questo metodo si riesce a caricare gli aghi di un numero pressochè costante di bacteri.

Poi infiggevo 8 o 10 di questi aghi infettati nel modo suddetto in ognuno degli organi isolati di tartaruga, conservando poi questi in una camera umida alla temp. di 14° - 16°. Dopo alcuni minuti mettevo uno di questi aghi in un tubo di agar-gelatina [1] e, dopo aver sbattuto accuratamente, versavo il con-

---

[1] Ho sempre usato una miscela a parti eguali della comune agar e di gelatina, affinchè la temperatura in cui il terreno nutritizio era ancora ben liquido non fosse superiore all' ottimo di temperatura del *b. ranicida*.

tenuto in una scatola di Petri. Ripetevo il processo con gli altri aghi dopo determinati intervalli di tempo, e, allorchè si erano sviluppate le colonie, procedevo al conteggio di esse.

Ho esperimentato sia con organi normali o immunizzati ancor *viventi* benchè separati dall'animale e con organi di cui le cellule erano state uccise mediante il congelamento. Ho preferito questo metodo per uccidere le cellule, giacchè ero sicuro di non alterare con esso le proprietà chimiche dei componenti cellulari e quindi di non distruggere le sostanze antibacteriche, dato che in quei tessuti ve ne fossero state.

Gli organi venivano congelati, appena estratti, ad una temperatura di circa — 10° e mantenuti a questa temp. durante 1[2 ora, poi li facevo rapidamente disgelare, mettendoli nel termostato a 37°. I muscoli così trattati diventavano, nel disgelarsi, assai trasparenti e si contraevano straordinariamente, poi si distendevano; perdevano anche del tutto la proprietà di contrarsi dietro convenienti stimoli elettrici.

Pezzetti di epitelio vibratile, egualmente trattati, perdevano, senza più racquistarlo, ogni movimento delle ciglia. Per queste e per altre ragioni, che ora sarebbe troppo lungo esporre, mi potei convincere della morte certa del protoplasma degli elementi congelati nel modo sopra descritto.

Quando ho potuto ho fatto ambedue le esperienze, con i tessuti normali cioè o con i congelati, servendomi dello stesso animale, di cui serbava un organo (rene o muscolo) o un pezzo di organo (fegato) intatto, mentre congelavo l'organo omologo o il resto dell'organo.

Nelle tabelle seguenti sono esposti i resultati delle esperienze fatte; alcune di queste sono state ripetute più volte ed ho avuto sempre resultati generalmente concordanti.

Esperienza I. — *B. ranicida* completamente virulento e organi di tartaruga normale.

(a)

	0 ore (1)	3 ore	6 ore	20 ore
Fegato	18	26	54	Moltissimi.
Rene	24	89	126	Idem.
Milza	36	32	87	Idem.
Muscoli	15	41	320	Idem.

(b)

	0 ore	3 ore	6 ore	20 ore
Fegato	58	122	138	Moltissimi.
Rene	83	122	290	Idem.
Milza	69	—	228	Idem.
Muscoli	71	215	181	Idem.

(1) Numero delle ore durante le quali gli aghi carichi di bacteri rimasero infissi nei varî tessuti di tartaruga.

Esperienza 2. — *B. ranicida* attenuato (per lunga permanenza sui terreni artificiali di cultura) e organi di tartaruga normale.

(a)

	0 ore		3 ore		6 ore		20 ore	
	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.
Fegato........	84	150	10	168	2	231	2	—
Rene.........	119	72	4	77	8	—	2	—
Milza.........	91	66	7	—	2	320	9	—
Muscoli.......	76	92	4	68	0	69	—	724

(b)

	0 ore		3 ore		6 ore		20 ore	
	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.
Fegato	42	13	15	128	68	210	16	∞
Rene.........	30	31	36	122	12	640	21	∞
Milza.........	28	43	42	92	2	115	74	Moltissimi.
Muscoli.......	39	22	4	215	45	127	7	∞

Esperienza 3. — *B. ranicida* completamente virulento e organi di tartaruga immunizzata.

(a)

	0 ore		3 ore		6 ore		20 ore	
	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.
Fegato	98	105	54	123	13	232	21	Moltissimi.
Rene	88	72	—	—	22	—	2	Moltissimi.
Milza.........	44	36	15	54	8	124	6	Moltissimi.
Muscoli.......	76	41	29	36	72	50	19	Moltissimi.

(b)

	0 ore		3 ore		6 ore		20 ore	
	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.
Fegato	23	42	42	73	21	416	15	Moltissimi.
Rene	67	80	4	118	18	119	3	Moltissimi.
Milza.........	107	99	26	25	13	—	2	Moltissimi.
Muscoli.......	96	102	34	81	12	327	—	Moltissimi.

Esperienza 4. — *Bacillus fluorescens putridus* **e organi di tartaruga normale.**

	0 ore		3 ore		6 ore		20 ore	
	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.
Fegato	51	79	42	81	24	321	41	Moltissimi.
Rene	73	64	6	23	4	156	24	Moltissimi.
Milza	90	102	83	95	6	115	78	Moltissimi.
Muscoli	75	88	26	124	32	263	87	Moltissimi.

Esperienza 5. — *Bact. coli* **e organi di tartaruga normale.**

	0 ore		3 ore		6 ore		20 ore	
	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.
Fegato	26	10	9	15	9	54	23	Moltissimi.
Rene	13	22	11	74	10	150	9	Moltissimi.
Milza	11	—	21	109	23	234	21	—
Muscoli	31	12	24	79	17	131	6	Moltissimi.

Da queste esperienze risulta:

1° Che le cellule di vari organi normali *viventi* sono capaci di uccidere i microrganismi non patogeni o i microrganismi patogeni attenuati;

2° Che le cellule *morte* (uccise mediante il congelamento) degli stessi organi non sono più capaci di uccidere gli stessi microrganismi, i quali anzi si sviluppano assai bene su esse;

3° Che le cellule, benchè *viventi*, non sono più capaci di uccidere il bacterio patogeno per esse, allorchè esso possiede tutte la sua virulenza: su esse il bacterio vegeta come un microrganismo non patogeno su cellule morte;

4° Che le cellule di organi appartenenti ad un animale immunizzato, si comportano di fronte al *b. rancida* virulento come le cellule di organi appartenenti ad un animale normale di fronte ad un microrganismo non patogeno; cioè son capaci di esercitare un' azione bactericida allorchè esse sono viventi, non sono più capaci di questa azione, dopochè vennero uccise mediante il congelamento.

Alcuni frammenti di visceri, nei quali erano restati infissi gli aghi di vetro per le precedenti esperienze, furono fissati in alcool, tagliati in serie e colorati con soluzione fenica di bleu di metilene e con soluzione alcoolica di eosina, metodo di colorazione che permette di studiare abbastanza bene il modo di comportarsi di certi microrganismi (che non resistono al metodo di Graam) nei tessuti. Malgrado le più accurate osservazioni microscopiche, non mi riuscì di sorprendere alcun fatto che mi spiegasse il modo con cui i microrganismi venivano distrutti nei tessuti. Potei osservare solo qualche fenomeno di fagocitosi per parte delle cellule linfoidi.

Aggiungerò ancora, riassumendo, che da queste esperienze resulta come il potere bactericida dei tessuti non sia da riferirsi alla presenza di sostanze capaci di uccidere i bacteri, giacchè i tessuti morti e non alterati chimicamente, non godono di un potere antibacterico, e come questo potere sia veramente una funzione *vitale* delle cellule, una proprietà cioè necessariamente collegata con la vita del protoplasma.

III. — Esperienze sulla azione del siero di sangue preveniente da animali immunizzati.

Poche parole dirò sul modo di produzione del siero. Gli animali venivano iniettati due o tre volte con piccola quantità di nucleo-proteide immunizzante; erano poi infettati e, dopo qualche giorno, estraevo il sangue dal cuore o mediante decapitazione, e lo centrifugavo per ottenere un siero limpido, priv di corpuscoli e di fibrina.

Ottenni così il siero dalle salamandre, dalle rane, dalle ta

tarughe e dalle cavie, e sperimentai questi vari sieri su diversi animali, ricercando se essi avessero proprietà preventiva o curativa.

Riporterò alcune di queste esperienze:

Esperienze sull' azione preventiva.

Siero proveniente da	Iniettato in	Numero degli animali iniettati	Quantità del siero iniettato	Numero dei giorni dopo cui si praticò l' infezione intra-peritoneale	Resultato
Salamandra	Salamandre	3	$^{2}/_{10}$ cmc.	2 giorni	Non ammalano.
Tartaruga	Salamandre	3	$^{1}/_{4}$ cmc.	2 giorni	Muoiono tutti tre.
Tartaruga	Tartarughe	2	$^{1}/_{2}$ cmc.	3 giorni	Vivono tutti due.
Rana	Rane	2	$^{1}/_{3}$ cmc.	2 giorni	Vivono tutti due.
Cavia	Salamandre	3	$^{1}/_{4}$ cmc.	3 giorni	Muoiono.
Cavia	Rane	2	$^{1}/_{3}$ cmc.	2 giorni	Muoiono.

Esperienze sull' azione curativa.

Siero di	Iniettato in	Tempo intercorso tra l' infezione intra-peritoneale e l' iniezione di siero	Quantità del siero iniettato	Numero degli animali trattati	Resultato
Rana	Rana	2 ore	$^{1}/_{3}$ cmc.	3	Due vivono, una muore.
Rana	Rana	4 ore	$^{1}/_{3}$ cmc.	3	Due muoiono, una vive.
Tartaruga	Salamandra	2 ore	$^{1}/_{3}$ cmc.	3	Muoiono.
Tartaruga	Tartaruga	6 ore	1 cmc.	1	Vive.

Quattro rane furono iniettate ognuna con $^{1}/_{3}$ di cmc. di siero di sangue di rana immunizzata, in cui era stata stemperata un' ansa di cultura virulenta di *b. ranicida*. Nessuna di esse morì.

Da queste e da altre analoghe esperienze risulta:

che il siero di un animale immunizzato con la sostanza da me estratta dai corpi bacterici ha un' efficacia preventiva e curativa negli animali della stessa specie, mentre non ha efficacia su animali di specie differente. Questo fatto si può spiegare pensando all'azione tossica che probabilmente, nei vertebrati inferiori, il siero di animali appartenenti ad una specie esercita su animali appartenenti ad un'altra specie. L' attività di un siero, anche efficace, non si manifesta mai allorchè, per ragioni che sono insite nell'animale iniettato o che si riferiscono al siero stesso, le cellule dell'organismo trattato vengono ad essere in qualche modo offese o indebolite.

Furono infettati con emulsioni di microrganismi virulenti in siero di rana immunizzata:

3 rane che erano rimaste in laboratorio da circa tre mesi e che si trovavano in condizioni piuttosto cattive;

3 rane che 8 giorni prima erano state iniettate con $^{1}/_{2}$ cmc. di soluzione di ClNa all' 1 $^{0}/_{0}$;

2 rane che 8 giorni prima erano state iniettate con $^{1}/_{2}$ cmc. di soluzione di urea all' 1 $^{0}/_{0}$;

Tutte 8 queste rane morirono d'infezione.

L'azione del siero mi risultò incostante quando l'iniezione curativa veniva fatta da 3 a 4 ore dopo la infezione. Dopo un intervallo di tempo maggiore di 4 ore, il siero si mostrò inefficace. Tenendo conto della rapidità con cui si svolge questa infezione, si può comprendere come, dopo 4 ore, la energia di resistenza contro i bacteri delle cellule dell'organismo possa già aver subìto una diminuzione per causa della malattia sviluppatasi.

Volli poi studiare l' azione del siero direttamente sulle cellule dei soliti organi, per riguardo al comparire del potere bactericida, seguendo il metodo degli aghi che sopra ho descritti.

A questo scopo dopo essermi procurato del siero di tartaruga immunizzata, preparai la giugulare d' un' altra tartarug

e iniettai nella vena stessa circa 1 cmc. del detto siero immunizzante. Dopo una mezz' ora uccisi la tartaruga e negli organi isolati di essa infissi i soliti aghi, bagnati in un'emulsione di bacilli virulenti. Ebbi contando le colonie sviluppatesi sulle piastre i seguenti resultati:

	0 ore	3 ore	6 ore	20 ore
Fegato	15	18	8	39
Rene	20	16	12	—
Milza	32	74	2	8
Muscoli	17	9	—	18

Ripetei questa esperienza praticando la congelazione di uno dei reni, di un muscolo, d'un pezzo del fegato e d'una metà della milza, ed ebbi il resultato seguente:

	0 ore		3 ore		6 ore		20 ore	
	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.	Normale	Congel.
Fegato	70	72	83	94	24	115	8	Moltissimi.
Rene	56	65	25	77	82	262	—	Moltissimi.
Milza	29	71	62	83	15	—	21	—
Muscoli	62	48	31	120	9	301	16	Moltissimi.

Questi resultati, in confronto con quelli ottenuti in precedenti esperienze, sono ancora una conferma che il siero curativo non è capace per se stesso di uccidere i microrganismi (nè esercita in questo caso un'azione antitossica), che la uccisione di questi è direttamente opera degli elementi dei tessuti poichè il siero può in certi casi eccitare la cellula ad una attività bactericida.

IL RAFFREDDAMENTO COME CAUSA DI ANOMALIE DI SVILUPPO

DELLE UOVA DI ANFIBI.

NOTA

DEL

PROF. GIULIO CHIARUGI.

Nella primavera del 1896, studiando in collaborazione col signor A. Banchi l' influenza della temperatura sullo sviluppo delle uova di *Salamandrina perspicillata*, (1) osservammo che se le uova o ancora insegmentate o al principio della segmentazione vengono sottoposte per parecchie ore ad una temperatura inferiore a 0° C., la segmentazione non si inizia, respettivamente si sospende o si rallenta; che se queste stesse uova vengono poi riportate alla temperatura ordinaria, la segmentazione si riattiva, ma però assai di frequente si effettua in maniera anormale.

Era interessante determinare se tali anomalie di segmentazione influiscono sull' ulteriore sviluppo e se, indipendentemente da esse, uova sottoposte a raffreddamento nei primi periodi di vita, offrono più tardi anomalie o mostruosità.

Nei primi esperimenti questo punto era stato toccato appena e con resultati poco sicuri, così che desiderai di occuparmene più di proposito in quest'anno 1897.

Mi incoraggiava a tali ricerche il sapere che le nostre cognizioni su tale argomento sono scarse ed incerte. In una Comunicazione pubblicata nel 1894, O. Hertwig (2) dice di aver

(1) G. Chiarugi ed A. Banchi, *Influenza della temperatura sullo svilupp delle uova di* Salamandrina perspicillata. (*Monit. Zool. Ital.*, anno 7, fasc. 12 Firenze 1896).

(2) Hertwig O., *Ueber den Einfluss äusserer Bedingungen auf die Entwickelung des Froscheies.* (*Sitz. d. K. preussischen Akad. d. Wiss.*, 1894, XVI 5 April).

sottoposto per 24 ore a temperatura di 0° uova di *Rana fusca* poco tempo dopo che erano state fecondate; le medesime, riportate a temperatura ordinaria, in parte si svilupparono normalmente, sebbene con maggior lentezza, mentre in parte presentavano nel segmento vegetativo un territorio più o meno grande che rimaneva insegmentato. O. Schultze [1] (1895) si mostrò favorevole all'idea che il freddo non danneggi permanentemente le uova, ma semplicemente ne arresti lo sviluppo. Infatti uova di *Rana fusca* allo stadio di gastrula, dopo aver subito un raffreddamento fino a 0° per 14 giorni, ripresero a svilupparsi normalmente, quando furono riportate alla temperatura ordinaria. Però nelle medesime condizioni embrioni con canal midollare chiuso resistettero soltanto per 3 giorni e un raffreddamento di 14 giorni li fece morire. In una successiva Comunicazione (1896) O. Hertwig [2] si accostò alla opinione dello Schultze, avendo trovato che uova fecondate di *Rana* sottoposte per giorni intieri alla temperatura di 0°, possono ancora svilupparsi normalmente quando abbia luogo un lento inalzamento della temperatura.

Ecco ora il resultato delle mie Esperienze.

Iª Esperienza.

Il 17 febbraio a ore 14, 15 uova di *Salamandrina* ancora insegmentate, che si trovano in acqua a temperatura di 10° C., vengono portate nel refrigerante ove la temperatura è di 7° C. Il raffreddamento procede lentamente fino a una temperatura di —1° C. Alle 11 del giorno successivo le uova vengono tolte dal refrigerante e si fa che lentamente ritornino alla temperatura primitiva. A quell'ora soltanto due uova erano allo stadio a 2 blastomeri, le altre erano rimaste insegmentate. Uova di confronto in ugual numero, lasciate alla temperatura di 10° C.,

(1) Schultze O., *Ueber die Einwirkung niederer Temperatur auf die Entwickelung des Frosches*. (*Anat. Anz.*, Bd. X. Jena 1895).

(2) Hertwig O., *Ueber den Einfluss verschiedener Temperaturen auf die Entwickelung der Froscheier*. (*Sitzungsberichte d. K. preussischen Akad. d. Wissenschaften zu Berlin. Phys.-math. Cl.*, 6 Febr. 1896).

erano per la massima parte allo stadio di 8 blastomeri e qualcuna allo stadio di 16.

Quattro delle uova che erano state sottoposte a raffreddamento non si svilupparono. Nelle altre 11 si effettuò, col ritorno alla temperatura iniziale, il processo di segmentazione; ma in 9 di esse si osservarono distinte anomalie di segmentazione sul genere di quelle già notate nei primi esperimenti. In alcune di tali uova, oltre ad aversi anomalie nella direzione dei solchi, nella grandezza dei blastomeri, ecc., fu veduto che i blastomeri del segmento animale, invece di essere uniformemente pigmentati, erano in parte chiari.

Era necessario seguire il destino delle 9 uova anormalmente segmentate e delle 2 nelle quali la segmentazione si effettuò secondo il tipo ordinario. Incominciamo dal dire di queste ultime.

La mattina del 19 febbraio una di queste uova era già morta. La mattina del 20 nell'uovo superstite che aveva continuato a segmentarsi erano comparsi segni di grave alterazione al polo vegetativo; tuttavia lo sviluppo procedè ancora e il 28 febbraio già si era formata la doccia midollare, all'estremo posteriore della quale faceva tuttora sporgenza attraverso il contorno del blastoporo il tappo vitellino. Il 1° marzo, quando già stava per iniziarsi in avanti la chiusura della doccia midollare, questa all'estremo posteriore era rappresentata da una superficie bernoccoluta, alquanto rialzata, ma non incurvata a doccia; essa presentava nel suo mezzo una fossetta irregolare nel fondo della quale compariva il tappo vitellino, fossetta che andò successivamente restringendosi e divenne una fessura a decorso ondulato e con qualche diverticolo laterale.

Così si mantennero le cose per qualche giorno ancora, poi la chiusura della doccia midollare si completò anche posteriormente, si sviluppò l'estremità caudale e a poco a poco l'aspetto esterno dell'embrione anche nella regione posteriore divenne normale.

Passiamo ora allo studio delle uova che mostrarono anomalie di segmentazione. Il tipo della segmentazione si regolarizzò più o meno sollecitamente in queste uova, cosicchè

segmentazione avanzata non differivano nell'aspetto da uova normali; soltanto in un uovo il segmento animale, anche a segmentazione avanzata, conteneva in una metà elementi più voluminosi che nell'altra metà. Fra il 2° ed il 3° giorno dal principio dell'esperimento, 3 uova morirono. Delle 6 superstiti, 4 procederono nello sviluppo, ottenendosene embrioni normali che furono seguìti fino alla lunghezza di mm. 7.5; in due si ebbero anomalie di sviluppo e cioè: 1° Un uovo arrivato al periodo gastrulare mostrò un grosso tappo vitellino, che andò crescendo di volume fino ad occupare quasi tutto un emisfero; a questo punto avvenne la morte. 2° Nell'altro uovo, al periodo del tappo vitellino, assai voluminoso, si osservò in questo una effusione di vitello. Formatasi la placca midollare, e trasformandosi questa nella doccia midollare, si notò che a sinistra il labbro della doccia non si costituì in maniera regolare e perfetta ma era rappresentato soltanto da qualche tubercoletto; il tappo vitellino rimase per qualche tempo sporgente nel fondo di una fossetta limitata da due labbri rialzati, poi scomparve e nel posto della fossetta si costituì una fessura blastoporica irregolare. Costituitasi appena l'estremità cefalica, l'embrione morì.

Riassumendo: delle 15 uova poste in esperimento, in 4 lo sviluppo non ebbe luogo; delle altre 11 uova soltanto 4, che del resto avevano presentato anomalie di segmentazione, riuscirono a svilupparsi in embrioni normali. Le uova di confronto dettero i seguenti resultati: Di 15, 3 non si svilupparono, 1 morì, le altre 11 si svilupparono normalmente.

Da questa esperienza risulta, che il freddo intenso che agisca per parecchie ore può esercitare una influenza dannosa sulle uova di *S.*, determinando una morte precoce od anomalie di sviluppo. Le anomalie di segmentazione non avrebbero una influenza decisiva sullo sviluppo ulteriore; infatti le sole 4 uova che in questo esperimento dettero embrioni normali si erano segmentate secondo un tipo anomalo.

IIª Esperienza.

Il 16 febbraio a ore 15, 10 uova arrivate allo stadio di 4 blastomeri, che si trovavano in acqua alla temperatura di 10° C. vengono poste nel refrigerante ove scendono alla temperatura di —1° C.— Altre 10 uova consimili vengono lasciate per confronto. Nel refrigerante le uova rimangono fino alle ore 9 del giorno successivo e vengono allora gradatamente riportate alla temperatura primitiva. Soltanto in 6 di queste uova lo sviluppo procedette regolarmente e se ne ottennero larve che si seguirono fino che ebbero raggiunto la lunghezza di mm. 8,5. Le altre quattro morirono allo stadio gastrulare. In una di queste uova il tappo vitellino acquistò delle proporzioni enormi, occupando più che una metà della sfera. — Tutto procedette regolarmente nelle uova di confronto.

IIIª Esperienza.

Una esperienza simile alla precedente fu eseguita con 8 uova arrivate al principio della invaginazione gastrulare. Non si ebbero resultati che dimostrassero in modo chiaro che il raffreddamento avesse avuto influenza nel determinare anomalie di sviluppo.

IVª Esperienza.

Mi proposi di ricercare in maniera comparativa l'influenza della varia durata del raffreddamento. A tal uopo, 61 uova di *Salamandrina* ancora insegmentate, che si trovavano alla temperatura di circa 10° C. furono, il 10 marzo a mezzogiorno, portate nel refrigerante e sottoposte a una temperatura di circa 0° C. Furono tolte dal refrigerante e rimesse alla temperatura

iniziale, 10 per volta, dopo un differente intervallo di tempo, e cioè:

N°	10	dopo	5	ore	(1°	lotto)
»	11	»	8	»	(2°	»)
»	10	»	12	»	(3°	»)
»	10	»	21	»	(4°	»)
»	10	»	23	»	(5°	»)
»	10	»	28	»	(6°	»)

Ecco le cose degne di nota:

1° Lotto. Delle uova del primo lotto due morirono a uno stadio precoce di sviluppo. In uno la doccia midollare alla sua estremità anteriore, nel periodo nel quale avrebbe dovuto presentare, secondo il consueto, un ben distinto labbro, era del tutto pianeggiante, a spatola, e solo più tardi riprese a svilupparsi in maniera normale.

2° Lotto. Due anomalie di segmentazione del genere di quelle già altrove descritte. Al periodo gastrulare tutte le uova, comprese le due sopranotate, avevano aspetto normale. Allo stadio della doccia midollare in un embrione si notava un tappo vitellino discretamente grosso, sporgente tra i labbri della doccia midollare. Questa anomalia si riparò in seguito; però la larva era anche più tardi riconoscibile per essere più piccola, arretrata nello sviluppo, incurvata assai su sè stessa e con estremità caudale appena accennata.

3° Lotto. Due delle solite anomalie di segmentazione nello stadio a 8 blastomeri. Un uovo non si sviluppò. Resultato finale: due uova morte al periodo gastrulare; le altre si svilupparono normalmente.

4° Lotto. Tre anomalie di segmentazione nello stadio fra 2 e 8 blastomeri. Inoltre in detto stadio un uovo presentava un piccolo noduletto (?) al polo superiore, un altro uovo un piccolo estrovato. Al periodo della gastrula un uovo morì. Delle nove uova superstiti, in una il tappo vitellino acquistò una notevole grandezza, l'uovo si rigonfiò a vescicola e morì. Anche in un altro uovo il tappo vitellino divenne assai grosso e la doccia midollare sembrava che si fosse formata solo da un lato.

Una simile anomalia fu osservata in due altre uova: si vedeva in queste l' asse della doccia midollare incurvato lateralmente, perchè da un lato la doccia midollare era imperfettamente costituita; i segmenti mesodermici si distinguevano bene dal lato ove la doccia era normale, ma non si vedevano dall' altro lato. Le altre 5 uova erano normalmente sviluppate e furono seguìte finchè ebbero raggiunto la lunghezza di 7 mm.

5° Lotto. Tre anomalie di segmentazione nello stadio fra 2 e 8 blastomeri. In un altro uovo piccoli noduletti al polo superiore. Tutte le uova morirono senza arrivare o avendo appena raggiunto il periodo della gastrula.

6° Lotto. Tre delle solite anomalie di segmentazione. Arrivati allo stadio gastrulare si costatò che un uovo era già morto; in due altre uova si formò un grossissimo tappo vitellino e vennero a morte rapidamente. In un uovo infine si formò allo stadio della doccia midollare una singolare anomalia consistente nella deviazione da un lato, a destra, della estremità posteriore della doccia midollare stessa. La larva continuò a vivere; la doccia midollare si chiuse conservandosi il suddetto incurvamento in modo che l'estremità caudale appariva fortemente ritorta ad uncino. Il canale midollare specialmente in dietro era alquanto dilatato. Le altre 6 uova si svilupparono normalmente e le larve furono seguite fino alla lunghezza di 7 mm.

Se ora si riuniscono in un sol gruppo le uova dei primi tre lotti, le quali hanno risentito l' azione del freddo per un tempo che varia da 5 a 12 ore, e in un altro gruppo le uova degli ultimi tre lotti che sono state in esperimento da 21 a 28 ore e si paragonano tra loro i risultati complessivi respettivamente ottenuti, chiaro apparisce il maggior danno della maggior durata del raffreddamento. Infatti dalle prime 31 uova si ottennero 24 embrioni normali, dalle seconde 30 soltanto 11.

V^a Esperienza.

In questa esperienza le uova risentirono per un tempo maggiore che nelle precedenti l' influenza di una bassa temperatura.

Il 13 gennaio a ore 10, furono messe nel refrigerante 12 uova insegmentate di *S.*, che si trovavano a una temperatura di 10° C, e rimasero a una temperatura di circa 0° fino alle ore 22 del giorno successivo per essere allora lentamente riportate alla temperatura primitiva. Altre 12 uova insegmentate furono lasciate per confronto. Gli embrioni che nacquero da queste ultime, seguiti fino alla lunghezza di mm. 8,5, si svilupparono con rapidità sensibilmente uguale e non offrirono alcuna anomalia. Invece delle uova che avevano risentito l'azione del freddo, alcune (4) nello stadio da 2-8 blastomeri presentarono le solite anomalie di segmentazione, e, pur prescindendo da questo, soltanto in parte riuscirono a svilupparsi in embrioni normali. Infatti di queste 12 uova, una morì due giorni dopo essere stata tolta dal refrigerante (stadio di blastula); — due morirono al periodo gastrulare mostrando un tappo vitellino anormalmente voluminoso; — in una al periodo della doccia midollare si vedeva un ampio blastoporo circolare con tappo vitellino sporgente; il ravvicinamento dei labbri del blastoporo e la chiusura della doccia midollare in dietro avvenne con ritardo, e anche in stadii più inoltrati l'embrione era riconoscibile per un difettoso sviluppo dell'estremità caudale; — un embrione nel quale il nevroporo posteriore si conservò più a lungo, presentandosi anormalmente ampio e spostato lateralmente, più tardi subì per qualche impercettibile lacerazione ventrale un'effusione di vitello, e raggiungeva appena i mm. 5,5 di lunghezza quando gli altri embrioni sottoposti al freddo, ma normali, avevano una lunghezza di mm. 8.5 ; — un embrione che si era fin' allora sviluppato normalmente morì arrivato che fu alla lunghezza di mm. 7 ; — in 3 embrioni un occhio esercitato avrebbe osservato in qualche stadio piccole deviazioni dal tipo normale, ma non tenendo conto di questo, era però evidente un ritardo di vario grado nel loro sviluppo. — Soltanto tre embrioni, seguiti fino alla lunghezza di mm. 8,5 si mostrarono sempre tutti fra loro uguali nel grado di sviluppo e perfettamente normali.

VIª Esperienza.

In questa e nella successiva esperienza mi proposi di ricercare se il raffreddamento, pur di breve durata, seguito da un improvviso e considerevole aumento di temperatura avesse influenza dannosa sullo sviluppo delle uova.

Il 15 marzo a ore 15,20, N° 15 uova incompletamente divise in 2 blastomeri, le quali si trovavano a temperatura di 10°,5 C. vennero portate nel refrigerante e ivi mantenute a una temperatura di circa 0° fino alle ore 20 dello stesso giorno; passarono allora subito in acqua a temperatura di 19° C. e vi rimasero fino alle 9,30 del giorno successivo per essere poi rimesse alla temperatura iniziale. Già in questo stesso giorno alcune di queste uova avevano aspetto poco rassicurante. Tutte prima o poi morirono senza raggiungere lo stadio della invaginazione gastrulare.

VIIª Esperienza.

Il 22 febbraio a ore 12, N° 14 uova col 1° solco meridiano più o meno completo e a temperatura iniziale di 12° C. vennero portate nel refrigerante a una temperatura di circa 0° C. e vi rimasero fino alle ore 15 del medesimo giorno. Levate 2 uova che già si trovavano allo stadio di 4 blastomeri, tutte le altre, nelle quali la segmentazione non aveva progredito, si portarono immediatamente a una temperatura di circa 18° e vi si tennero fino alle 20,30 del medesimo giorno per essere allora riportate alla temperatura iniziale. Un uovo si trovò morto in questo momento, tutte le altre si svilupparono in embrioni che furono seguìti fino alla lunghezza di 7 mm. In 6 di questi embrioni nel periodo della doccia midollare si notò un'interessante anomalia di sviluppo. La placca midollare che al di dietro dèl ristringimento corrispondente al futuro cervello medio era già incurvata a doccia e con labbri ben formati e più o meno regolarmente ravvicinati, nella parte anteriore al detto ristringi-

mento non era limitata da un labbro ben rilevato, ma era in forma di lamina pianeggiante quasi affatto rialzata sulla prossima superficie ectodermica, con labbri o quasi mancanti o appena accennati e in qualche caso da un solo lato. Aveva per dirlo in breve la forma di spatola. In qualche embrione questo difetto di formazione, però in piccol grado, si continuava anche nella regione posteriore dell' encefalo. La regione dell' istmo era quella dove in ogni caso i labbri della doccia midollare erano meglio formati e più ravvicinati.

Questa anomalia si riparò rapidamente e gli embrioni si mostrarono in seguito con aspetto del tutto normale.

Per quanto le esperienze sulle quali abbiamo riferito in queste pagine siano ben lontane dal presentarci un quadro completo della influenza che il raffreddamento dispiega nel determinare anomalie di sviluppo nelle uova di anfibi, e in qualche punto non possano essere considerate come del tutto conclusive, pure ci sembrano sufficienti a dimostrare che realmente un abbassamento considerevole di temperatura, specialmente se dura per molte ore, non solo sospende temporaneamente lo sviluppo, ma può farsi causa di morte o di anomalie di formazione, di grado maggiore o minore, più o meno precoci, talora riparabili, talora persistenti, compatibili colla vita o determinanti la morte dell' embrione; in alcuni casi esso ha per unico effetto apparente una minore rapidità di sviluppo. Anche un raffreddamento di breve durata che sia seguìto da un brusco e considerevole aumento di temperatura può danneggiare le uova e provocare anomalie di sviluppo.

Come altri agenti teratogenici, così il raffreddamento, almeno nel modo col quale fu sperimentato, non riesce efficace se non a patto di trovare una particolare predisposizione, una minor resistenza dell'uovo; così si spiega che alcune uova possano continuare a svilupparsi in maniera normale, quando altre uova che si trovarono sottoposte alla medesima influenza, o muojono o vanno incontro ad anomalie o mostruosità; così si

spiega che il rapporto proporzionale fra la durata del raffreddamento e la percentuale delle uova che non hanno risentito danno non sia rigorosamente costante.

Si può ragionevolmente supporre che il raffreddamento cui possono facilmente rimanere esposte le uova che si sviluppano nelle condizioni naturali, divenga un agente efficace di selezione.

È da notare la possibilità che un' anomalia di sviluppo venga riparata in maniera più o meno perfetta. Già le anomalie di segmentazione, per quanto distinte, non sono necessariamente collegate con uno sviluppo ulteriore anomalo, ed anche anomalie più gravi che si manifestano allo stadio gastrulare o durante la formazione della doccia midollare possono correggersi e non lasciare tracce manifeste.

Nelle nostre esperienze abbiamo in generale impiegato uova insegmentate o al principio della segmentazione [1]. Sarebbe interessante il ricercare se in altre fasi dello sviluppo il raffreddamento è più o meno tollerato, e se ed in quanto tale diversa tolleranza può renderci ragione della differenza fra i resultati miei e quelli di altri sperimentatori. Di ciò spero potermi occupare fra breve. Intanto mi sembra degno di nota che mentre in alcuni casi l'azione dell' agente teratogenico è stata immediata, ottenendosi nelle uova riportate a temperatura ordinaria distinte anomalie di segmentazione, in altre uova è stata tardiva. Ciò va inteso nel senso che le piccole modificazioni inavvertibili determinate dal freddo sono state di tal qualità da moltiplicarsi di per loro stesse nelle divisioni successive degli elementi cellulari o di certi gruppi di elementi fino al punto da dar luogo a fenomeni apprezzabili anche a un esame esteriore.

Tra le anomalie di sviluppo osservate in seguito all'azione del freddo, mi sembra interessante la forma a spatola assunta dalla porzione anteriore della placca midollare in un periodo nel quale ordinariamente essa è alla periferia rialzata in un

---

(1) Soltanto nella Esperienza III^a, che dette resultati negativi, adopera uova allo stadio della gastrula.

ben distinto labbro. Questa anomalia fu verificata in un embrione della IV^a Esperienza e in 6 della VI^a. Che essa fosse imputabile alle condizioni sperimentali lo desumo anche dal fatto, che nel grandissimo numero di embrioni che durante queste ed altre esperienze mi son passati sott'occhio, non ho mai notato simili forme. Va anche ricordato che Kaestner [1] nelle sue esperienze intorno all'influenza che esercita l'interruzione della incubazione sullo sviluppo delle uova di uccello ha ottenuto delle forme anomali che somigliano a quelle sopra descritte consistendo esse nel mancato sollevamento delle pieghe midollari nella regione dell' encefalo, così che questo si presenta in forma di placca completamente orizzontale.

---

[1] Kaestner, *Ueber die Unterbrechung der Bebrütung von Hühnereiern als Methode zur Erzeugung von Missbildungen.* (*Anat. Anz, Ergänzungsheft* Bd. XII. Jena 1896. Cf. fig. 1).

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pisa diretto dal Prof. V. Aducco.

SUL PESO DELL'ESTRATTO ETEREO DEL SANGUE E DELLA LINFA

NEL DIGIUNO DI BREVE DURATA

NOTA PRIMA

DEL

DOTT. LAMBERTO DADDI

Aiuto.

Con recenti ricerche Schulz [1] ha dimostrato che nel sangue durante il digiuno si accumula una notevole quantità di grasso. Lo Schulz si è servito del sangue di conigli, di piccioni e di due cani ed ha trovato che in alcuni di questi animali la quantità di grasso può arrivare fino al 0.50 per $^{0}/_{0}$ in più di quello contenuto nel sangue normale: in altri poi (piccioni) tale aumento può essere ancora più grande. Schulz dimostrò inoltre che le variazioni individuali fra animali della stessa specie non son molto ampie e certo sarebbero minori quando si potessero scegliere animali i quali avessero la stessa età, fossero della stessa razza e dello stesso peso. Maggiori differenze invece nel contenuto del grasso nel sangue vi sono fra i mammiferi e gli uccelli, giacchè in questi ultimi il peso dell' estratto etereo ricavato dal sangue è il doppio di quello dei primi. La durata del digiuno negli esperimenti di Schulz variò da 24 ore fino a 120, tempo che mi sembra troppo breve specialmente pei conigli, i quali hanno raccolto nel tubo digerente un' assai grande quantità di cibo, la quale viene utilizzata lentamente

(1) *Ueber den Fettgehalt des Blutes beim Hunger.* (Pflüger's Arch., Bd. 65, pag. 299).

Perciò almeno nelle prime 24 ore credo sia difficile poter con sicurezza escludere che una piccola porzione di grasso non possa venire riassorbita attraverso l' intestino. Tal sospetto diviene tanto più forte quando, come nel caso di Schulz, non si faccia il confronto diretto fra il peso dell'estratto etereo ricavato dal sangue normale e quello del digiuno di uno stesso animale.

Di certo i fatti trovati da Schulz sono assai interessanti poichè non solo, come egli pensa, servono a dimostrare che il grasso contenuto nel tessuto adiposo non vien consumato in sito e viene riassorbito e portato in circolo, ma anche servono a dimostrare come si comporta quel tessuto durante l' inanizione ed in qual misura esso ceda i suoi materiali al sangue. Quest' ultima ragione mi ha spinto a far alcune ricerche simili a quelle dello Schulz, ma in animali diversi da quelli adoprati dal suddetto Autore, e cioè nei cani poichè questi possono sopportare un digiuno protratto per un tempo molto lungo e presentano condizioni che si avvicinano molto più a quelle dell' uomo.

Uno svantaggio rispetto ai conigli ed ai piccioni è dovuto a ciò, che mentre è relativamente facile poter scegliere animali della stessa razza, età, peso fra i primi, è assai difficile poterli trovar fra i cani. Del resto tal svantaggio non è molto grande, perchè potremo sempre stabilire il fatto generale del modo di comportarsi del tessuto adiposo in individui di età, di razza diversa ed incondizioni generali pure diverse durante il digiuno.

Ho creduto utile ricercare la quantità di estratto etereo anche nella linfa durante la inanizione perchè, per quanto è a mia cognizione, tali ricerche non furono mai fatte, ed avrebber potuto servire a stabilire per qual via il grasso contenuto nel tessuto adiposo viene riassorbito e portato in circolo.

Metodo di ricerca

Il metodo da me adoprato per aver il peso totale dello estratto etereo del sangue è simile a quello descritto da Dormeyer nei Pflüger's Archiv, vol. 65, 1897 e poi impiegato da Schulz.

Il sangue estratto quasi sempre dalla vena safena veniva mescolato, dopo aver tagliato finamente colle forbici il coagulo di fibrina, con una soluzione di HCl al 0,50 per °/₀ e di pepsina al 0,1 per °/₀. La quantità di tal soluzione da aggiungersi al sangue è di circa 10 volte il suo volume. Per la linfa fin dalle prime ricerche mi accorsi che tal quantità è troppo grande: quindi consiglio di non aggiunger mai più del quadruplo di soluzione. Il peso dell' estratto etereo di un 1 grammo della pepsina da me adoprata era gr. 0,0144: ogni 100 cc. della soluzione al 0,1 per °/₀ contenevano gr. 0,0014 di estratto etereo.

Non sto a dire come, prima di aggiungere quel liquido digerente, tanto il sangue come la linfa venivano esattamente pesati in adatti recipienti. Poi venivano posti nella stufa a 38° o 39° gradi e vi si lasciavano per 24 ore. La linfa già dopo 5 o 6 ore era digerita e tutti i fiocchetti fibrinosi (se ve n'erano contenuti) erano completamente sciolti. Se i fiocchi di fibrina non erano sciolti, specialmente nel sangue, prolungavo anche oltre le 24 ore il tempo della digestione artificiale. Compita questa filtravo il liquido così ottenuto e, se un residuo un po' abbondante rimaneva sul filtro, ripetevo la digestione di esso. Mescolavo il filtrato con abbondante etere, sbattevo varie volte e quindi separavo l'etere dal medesimo in un imbuto a separazione. Facevo evaporare a bagno maria il liquido separato dall' etere, ponevo il residuo a seccare in una stufa, nella quale era mia cura mantenere la temperatura fra i 70° e gli 80° gradi poichè, elevandosi essa oltre quei limiti, il sangue acquista tale una durezza vitrea che poi è difficile polverizzarlo. Dopo averlo polverizzato finamente l' aggiungevo a quel piccolo residuo che era rimasto sul filtro (il quale era stato seccato nella stufa), e lo ponevo nell'apparecchio di Soxhelet. Prolungavo l'estrazione per 24 ore. Evaporavo l' etere e pesavo l' estratto etereo ottenuto nei due modi sopra detti: dal peso totale sottraevo quello dell' estratto etereo contenuto nel liquido digerente aggiunto al sangue od alla linfa.

Ho voluto vedère quali sono gli errori che si commettono in tali ricerche, confrontando il peso dello estratto etereo due porzioni di sangue estratto collo stesso salasso dal medesi

animale e trattate nel modo identico. In media si può stabilire che si fa un errore di gr. 0,02 per cento in più od in meno fra le due prove. [1] Le differenze comprese entro questi limiti sono da riferirsi ad errori di metodo.

Come già dissi, per queste ricerche mi son servito di animali di razza, ed età diverse ed in condizioni generali di nutrizione molto svariata. Prendevo il primo campione di sangue che mi pare di poter considerare come normale dopo 24 ore dallo ultimo pasto; gli altri campioni venivan tolti nei varii animali dopo un numero diverso di giorni di digiuno. La durata di questo al minimo è stata di un giorno, al massimo di sedici. Per ora mi son limitato a far ricerche entro questo tempo; in un lavoro che pubblicherò fra poco, ho studiato il peso dell'estratto etereo del sangue nel digiuno protratto fino alla morte. Durante l'inanizione gli animali ricevevano una determinata razione di acqua: in media ho dato colla sonda 20 cc. di H^2O per ogni Kgr. di peso dell'animale.

Nel giorno ultimo di digiuno toglievo prima il campione di sangue e poi scoprivo il condotto toracico e prendevo la linfa necessaria alle ricerche. Ho tolto quasi sempre il sangue dalla vena safena, poichè è noto per le ricerche di Röhmann e Mühsam [2] che il contenuto di grasso nel sangue arterioso ed in quello venoso è eguale quando non si producano disordini di circolazione.

Ho raccolto tutti gli esperimenti da me fatti nella tabella I, dalla quale si può vedere come sian grandi le variazioni individuali della quantità di estratto etereo del sangue negli

[1] Un esempio serve meglio a chiarir la cosa: estrassi dalla safena di un cane una certa quantità di sangue e la divisi in due parti: una pesava gr. 6,470, l'altra gr. 5,907: trattai ambedue nello stesso modo e dalla prima trassi gr. 0,0333 di estratto etereo, dalla seconda gr. 0,0314; calcolando la quantità del peso dell'estratto etereo per ogni 100 gr. di sangue nella prima vi erano gr. 0,514 di estratto etereo, nella seconda gr. 0,531, ossia fra l'una e l'altra vi è una differenza di gr. 0,017 per %. In altre prove trovai errori un poco maggiori.

[2] ROHMANN e MÜHSAM. Pflüger's Arch., vol. 46, pag. 383. — *Ueber den Gehalt des Arterien und Venen Blutes an Trockensbustanz und Fett.*

animali da me adoprati. Si va da un minimo di 0,3874 per cento ad un massimo di 0,9894: spesso negli animali magri la quantità di estratto etereo sembra maggiore che in quelli ben nutriti. A ciò fanno eccezione gli animali polisarcici nei quali il peso dell' estratto etereo in 100 parti di sangue è molto abbondante: in una cagna trovai 0,8201 per cento di estratto etereo in 100 gr. di sangue.

TABELLA I

Numero d' ordine	Data dell' esperienza	Peso iniziale	Durata del digiuno	Peso alla fine del digiuno	Peso del sangue preso dopo 24 ore di digiuno	Peso dell'estratto etereo contenuto nello stesso	Quantità dell'est. etereo per %	Quantità del sangue all'ult. giorno di digiuno	Quantità dell'estr. etereo	Quantità per %	Osservazioni
1	1897 6 Febb.	12,760	8 giorni	10,910	14,425	0,0559	0,3874	7,470	0,0528	0,7068	Assai grasso
2	11 Mar.	7,110	7 »	5,880	5,618	0,0488	0,868	7,282	0,0724	0,9294	Assai magro
3	11 Mar.	6,910	6 »	5,980	8,551	0,0540	0,6315	6,780	0,0473	0,6976	Magro
4	11 Mar.	8,560	1 »	....	7,800	0,0646	0,8281	....	....	....	Polisarcico
5	12 Mar.	4,710	1 »	....	4,605	0,0460	0,9894	....	....	....	Molto magro
6	27 Mar.	7,830	3 »	7,100	7,635	0,0519	0,6793	6,710	0,0480	0,7153	
7	31 Mar.	12,210	5 »	10,960	8,935	0,0430	0,4812	11,195	0,0596	0,5324	Assai grasso
8	16 Apr.	30,150	7 »	27,460	7,935	0,0583	0,7347	7,300	0.0598	0,819	Grasso
9	13 Mag.	19,960	1 »	19,510	6,150	0,0422	0,687	4,900	0,0324	0,660	Magro
10	13 Mag.	17,960	7 »	....	6,580	0,0588	0,8176	8,000	0,0730	0,9125	
11	30 Apr.	38,260	7 »	30,004	6,510	0,0354	0,5187	5,190	0,0322	0,6221	Magro
12	20 Mag.	18,160	16 »	18,500	6,790	0,0490	0,7216	10,650	0,0678	0,6366	In buone condizioni gen.

Non saprei dire quale influenza abbiano l' età, la razza, il modo di alimentazione sulla quantità di grasso del sangue poichè non ho un numero sufficiente di ricerche fatte in animali della stessa età e razza.

Le differenze individuali che abbiamo trovato nel sangue normale rispetto al peso dell' estratto etereo le troviamo pur in quello del digiuno. Basta confrontare i dati contenuti nella colonna 8 con quelli della colonna 11 (Tavola I).

Da questi dati emerge però con molta evidenza il fatto che durante la inanizione il peso dello estratto etereo cresce nel sangue. Tal aumento può esser molto diverso; in alcuni animali il peso dell'estratto etereo può divenir il doppio di quello normale (n. 1), in altri può esser di pochi centigrammi (n. 3). In due sole esperienze ho trovato una diminuzione del peso dell' estratto etereo (n. 9 e 12): nella prima l'animale aveva digiunato un giorno, ed il campione primo di sangue era stato preso soltanto dopo 12 ore dall'ultimo pasto; nella seconda il cane aveva digiunato 16 giorni. Nella prima la differenza fra il peso dello estratto etereo nel sangue normale e quello del digiuno, è solo di 0,027 e forse può spiegarsi come compresa nei limiti di errore, nella seconda (n. 12) tal differenza è molto maggiore, il sangue normale contiene gr. 0,0850 in più di quello del digiuno. Siccome tal differenza non può imputarsi a qualche causa di errore, si potrebbe pensare che la diminuzione del peso dell' estratto etereo dipendesse dal fatto che o una minor quantità di grasso sia stata ceduta dal tessuto adiposo al sangue, oppure una maggior quantità di quello sia stata consumata. Non posso però affermare ciò con sicurezza perchè non ho dati sufficienti a dimostrare se dopo 15 giorni di digiuno cessa l' aumento del peso dello estratto etereo del sangue. Se escludiamo le esperienze n. 9 e 12 si può affermare che durante il digiuno, od almeno nei primi 8 o 10 giorni, vi è costantemente un aumento della quantità di estratto etereo contenuto nel sangue. Questo aumento dipende dal fatto che i processi ossidativi diminuiscono durante il digiuno, oppure è dovuto ad una maggiore quantità di materiali che il tessuto adiposo dà al sangue? oppure è da porsi in relazione col fatto trovato da Voit, da Bidder, da Falck, da Luciani, (1) che nei primi giorni del digiuno nell' orina degli animali la cifra dello azoto è notevolmente aumentata, e quindi v' è un maggior consumo di carne rispetto a quello del grasso?

(1) LUCIANI, *Fisiologia del digiuno*. Firenze, 1889.

La ragione dell' aumento del peso dello estratto etereo nel sangue non può dipendere da questa ultima causa perchè, mentre l' aumento dello azoto dell'orina dura due o tre giorni al massimo, l'aumento del grasso nel sangue dura almeno 8 o 10 giorni. Assai più difficile ad escludersi è se tal aumento dipenda dalla diminuzione dei processi ossidativi che si verifica durante il digiuno. È certo che, durante l' inanizione e per mezzo di ricerche calorimetriche e con ricerche gazometriche calcolando la quantità di CO^2 eliminata in un determinato tempo, si è potuto *dimostrare* una diminuzione dei processi ossidativi. Senator sul Cetti potè verificare che fin dai primi giorni della inanizione si abbassa alquanto la produzione del calore e l'abbassamento di essa progredisce col progredir di quella. Ciò era stato dimostrato anche per gli animali. Luciani pure potè dimostrare una diminuzione di calore nel digiunatore Succi, diminuzione che è controbilanciata da diminuita dispersione.

Anche con altre ricerche si è giunti alla conoscenza della diminuzione dei processi ossidativi durante il digiuno: Pugliese [1] dimostrò ciò sotto la direzione del mio maestro prof. Aducco, negli animali erbivori e nei carnivori.

Se durante il digiuno dobbiamo ammettere che vi sia una diminuzione dei processi ossidativi, dobbiamo pure ammettere che il consumo del grasso è aumentato. Questo fatto in special modo si ricava dalla valutazione del quoziente respiratorio, il quale diviene una frazione notevolmente più bassa della unità. L'interpretazione di questo fenomeno si basa appunto sul fatto, che durante il digiuno vien consumato in gran parte il grasso accumulato nel tessuto adiposo per l' ossidazione del quale ci vuole una quantità di ossigeno assai maggiore di quella emessa sotto forma di CO^2. Il maggior consumo di grasso durante il digiuno si può ricavare inoltre calcolando dalla quantità di C eliminata per la respirazione la quantità di grasso ossidato, e dall'N della orina la quantità di carne, e sottraendo dal primo il C

---

[1] Pugliese, *I processi ossidativi negli animali e digiuno.* (Acc. dei Fisiocritici, serie IV, vol. V).

contenuto nella carne: in base a questi dati il prof. Luciani potè stabilire che nel Succi prima del digiuno vi era un consumo

	di grasso		di carne
	= 110		= 500
al 10° giorno	= 142 »	»	= 198
al 21° »	= 142 »	»	= 128
al 29° »	= 136 »	»	= 120

Da queste considerazioni risulta, che quell'aumento da me verificato nel sangue nei primi 10 o 12 giorni di inanizione deve in parte dipendere da diminuzione dei processi ossidativi, ma in gran parte da aumentata quantità di materiali che il tessuto adiposo cede al sangue. È questa una prova diretta del maggior consumo di grasso durante la inanizione.

Mentre eseguivo questi esperimenti ho potuto riconfermare un fatto già da me trovato, che cioè nel digiuno le gocce contenute nelle cellule adipose si fragmentano in minute goccioline tanto da sembrar una fine emulsione.

Per qual via il grasso contenuto in quelle cellule viene riassorbito? Attraverso ai vasi linfatici o a quelli sanguigni?

Per tentare di risolvere questo problema ho studiato la quantità di grasso contenuto nella linfa durante il digiuno (Tavola II).

TABELLA II

Numero d'ordine	Data	Durata del digiuno	Peso della linfa	Peso estrat. etereo	Peso per °/₀ di linfa	Peso in °/₀ di sangue	Osservazioni
1	1897 13 Dec.	6 giorni	27,6226	0,0846	0,3052	......	Non fu dosato.
2	23 Dec.	1 »	13,975	......	0,8581	......	Non fu dosato. Linfa lattescente.
3	24 Dec.	4 »	12,254	0,0718	0,5859	0,4077	
4	24 Dec.	7 »	14,357	0,0834	0,5809	0,3210	
5	8 Genn.	3 »	5,976	0,0388	0,6859	0,3658	Ebbe diarrea; era ammalato di enterite.
6	6 Febb.	8 »	8,020	0,0730	0,8902	0,7068	
7	25 Febb.	2 »	7,295	0,0632	0,8800	0,6524	
8	25 Febb.	3 »	6,075	0,0712	1,1721	0,4362	
9	25 Febb.	6 »	4,617	0,0358	0,7750	1,2704	
10	25 Febb.	7 »	10,025	0.0590	0,5885	0,431	
11	11 Marzo	6 »	4,520	0,3892	0,8610	0,6976	
12	11 Marzo	1 »	6,122	0,1105	1,8049	0,8281	
13	11 Marzo	1 »	5,70	0,0114	2,000	0,9894	
14	27 Marzo	3 »	7,512	0,1237	1,6468	0,7153	
15	31 Marzo	5 »	5,575	0,332	......	0,5324	
16	11 Giug.	7 »	13,920	0,0564	0,4051	0,9125	

Non ho potuto far il confronto fra la linfa normale e quella del digiuno di uno stesso animale: nè mi son provato a far confronti fra quella normale e quella della inanizione di animali diversi, perchè basta dar un'occhiata alla colonna 6 della Tavola II per accorgersi che molto grandi sono le differenze individuali nel contenuto di estratto etereo per °/₀ di linfa.

Il fatto sicuro che risulta dal paragone delle cifre della colonna 6 con quelle della colonna 7 (Tav. II), e che quasi costantemente nella linfa v'è contenuta una quantità di estratto etereo molto più grande di quella contenuta nel sangue dell'ultimo giorno di digiuno. Su 16 esperienze vi sono solo due

eccezioni (n. 9 e 16), nelle quali la quantità di grasso è più grande nel sangue che nella linfa. Non saprei a quali cause riferire queste due eccezioni.

La maggior quantità di estratto etereo nella linfa secondo me sta ad indicare che il grasso contenuto negli elementi cellulari passa almeno in parte nei vasi linfatici e da questi poi nel sangue. Il peso dell'estratto etereo non è tutto rappresentato dal grasso e non ci dà la quantità precisa di esso, perchè insieme vi son contenute colesterina, lecitina, ecc., ma è certo che la maggior quantità di esso è appunto rappresentata dal grasso.

Non si può dire che una linfa la quale possegga molti corpuscoli bianchi sia più ricca di estratto etereo rispetto a quella che ne contenga piccolo numero. Anche l'opalescenza maggiore o minore della medesima non è un carattere dal quale si possa desumere se essa contenga una maggiore quantità di estratto etereo: ho visto linfa lattescente molto opaca contenerne piccola quantità, mentre altre volte linfa molto chiara, e sciolta ne contiene una gran quantità.

Non ho potuto determinare se le piccole goccioline che si trovano nelle cellule adipose passano tali e quali nei vasi linfatici. Centrifugando a lungo la linfa si possono raccogliere alla superficie del liquido centrifugato alcune gocce adipose, ma non si può colla semplice osservazione microscopica determinare se il grasso passi sotto forma di emulsione nei vasi linfatici.

Un fatto assai notevole da me molte volte trovato in queste ricerche è che la linfa degli animali a digiuno spesso non coagula, mentre il sangue si coagula molto presto; non è un fatto costante, ma molto frequente. Spesso avviene la coagulazione della linfa della inanizione perchè vi si mescolano in abbondanza dei corpuscoli rossi.

Credo che la maggior quantità di estratto etereo della linfa rispetto a quella del sangue non possa venire interpretata altrimenti se non pensando che il grasso passi dalle cellule adipose nei linfatici.

Non mi è stato possibile con dati raccolti nella Tavola II stabilire un rapporto fisso fra il contenuto di grasso nella linfa

e quello del sangue; vi sono differenze assai grandi nei vari casi. In media si potrebbe dire che fra la linfa ed il sangue vi è una differenza in più per la prima di gr. 0,2 fino a gr. 0,4 per $^{0}/_{0}$. Una prova, mediante la quale si sarebbe potuto portare una conferma sperimentale assai valida alla opinione che il grasso venga riassorbito attraverso ai vasi linfatici, era quella di legare il condotto toracico e poi dopo vari altri giorni di digiuno fare un nuovo salasso e determinare nel sangue estratto il peso dell'estratto etereo. Legando il condotto toracico si viene a chiudere la maggior via che porta la linfa al sangue. Ciò ho fatto in sei animali e nella Tabella n. III si posson vedere i dati relativi a tali esperienze (Tavola III). In cinque su sei

TAVOLA III

Numero d' ordine	Data	Durata del digiuno	Durata digiuno dopo legato il condotto torac.	Peso estratto etereo nel sangue prima di legar il condotto	Peso estratto dopo legato il condotto	Osservazioni
1	6 Febb.	8 giorni	tre	0,7068 $^{0}/_{0}$	0,5919	Decorso normale. La ferita non suppurò.
2	25 Febb.	2 »	tre	0,6524	0,5998	Id. Id.
3	25 Febb.	6 »	tre	0,9894	0,838	Id. Id.
4	11 Marzo	7 »	due	0,9294	0,903	Id. Id.
5	11 Marzo	6 »	tre	0,6976	0,548	
6	12 Marzo	1 »	tre	0,9894	0,3892	Animale molto magro. La ferita suppurò. Morì di setticoemia.

casi studiati ho trovato una grande diminuzione del grasso contenuto nel sangue dopo legato il condotto toracico: in uno solo esso fu molto piccola. Parrebbe quindi che da questi esperimenti risultasse che il grasso in parte passa attraverso ai vasi linfatici, in parte invece pei vasi sanguigni perchè troviamo sempre una assai grande quantità di esso nel sangue dopo legato il condotto toracico. Nell'esperienza n. 6 la dimi-

nuzione del peso dell' estratto etereo fu molto forte, ma ciò secondo me è da riferirsi al fatto che la ferita suppurò abbondantemente, si ebbero setticemia mortale e gravissime febbri con elevata temperatura, perciò i depositi di grasso in questo animale che era anche magro si esaurirono molto presto.

A questi esperimenti si potrebbe far molte obiezioni: si potrebbe credere che la diminuzione del grasso nel sangue dopo legato il condotto toracico fosse dovuta alla grave operazione ed alle complicanze di essa. Si può escludere questa prima obiezione perchè nei casi nei quali l'operazione durò poco e non ebbe alcuna complicanza, si notò la diminuzione del peso dell'estratto etereo. Si può anche escludere che essa dipenda dal prolungarsi del digiuno perchè breve fu il tempo della inanizione dopo legato il condotto toracico.

Non è quindi improbabile che quella dipenda dal fatto che, dopo la legatura del condotto toracico, è stata chiusa la maggior via per la quale il grasso può giungere dai suoi depositi al sangue. Non escludo però che una certa quantità di grasso possa passare dal tessuto adiposo al sangue: ciò è provato non solo dal fatto (Tavola III) che nel sangue dopo la legatura del condotto toracico si trova assai elevato il peso dell'estratto etereo, ma anche dalla seguente esperienza. Ad un cane legai il condotto toracico il 15 febbraio, dopo due mesi tolsi sangue e trovai gr. 0,4292 di estratto etereo per $^{0}/_{0}$ mentre il sangue normale ne conteneva gr. 0,3874. Questa esperienza è una conferma della mia opinione che attraverso ai vasi sanguigni possa passare una certa quantità di grasso dal tessuto adiposo, a meno che dopo tanti mesi dalla legatura del condotto toracico non si sviluppino nuove vie di relazione fra il sistema sanguigno e quello linfatico oltre quelle già esistenti. Ciò spero di poter risolvere in un nuovo lavoro che ho già intrapreso.

Dall'insieme delle mie ricerche mi pare si possano trarre le seguenti conclusioni:

1. Durante i primi 10 giorni di digiuno si trova un aumento del peso dell'estratto etereo del sangue.

2. Tal aumento dipende in parte da aumentato consumo di grasso, in parte dalla diminuzione dei processi ossidativi.

3. La linfa contiene sempre una maggior quantità di estratto etereo del sangue.

4. In condizioni fisiologiche sembra che il grasso sia riassorbito dai suoi depositi e passi in gran parte nei vasi linfatici.

5. Dopo la legatura del condotto toracico la quantità dell' estratto etereo *diminuisce* nel sangue.

* * *

Sento il dovere di ringraziare il mio maestro prof. Aducco che mi diresse e mi fu largo di consigli in queste ricerche.

Pisa, Novembre 1897.

INDICE

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile.*